

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ

ИНСТИТУТ
ЦИТОЛОГИИ
И ГЕНЕТИКИ



Новосибирск, 2011

ВВЕДЕНИЕ



Учреждение Российской академии наук Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (ИЦиГ СО РАН) является одним из старейших институтов Сибирского отделения и принадлежит к числу крупнейших биологических институтов России и зарубежья.

История его становления неразрывно связана с возрождением отечественной генетики. После печально известной августовской сессии Всесоюзной академии сельскохозяйственных наук им. В.И. Ленина (ВАСХНИЛ) 1948 г. и последовавшего за ней разгрома советской биологической науки это был первый вновь созданный институт в системе Академии наук СССР, в тематике которого были официально закреплены направления, связанные с исследованием материальных основ и закономерностей наследственности и изменчивости.

Организованный в 1957 г. в числе первых десяти институтов СО РАН как многопрофильное учреждение для решения фундаментальных и прикладных задач в области генетики, цитологии, молекулярной биологии и селекции, Институт быстро вышел на передовые позиции в отечественной и мировой науке.

Директором-организатором и первым директором ИЦиГ до осени 1959 г. был академик Н.П. Дубинин, которому принадлежит заслуга как формирования кадрового потенциала, так и определения основных перспективных направлений деятельности Института.

С 1959 г. до 1985 г. Институтом руководил академик Д.К. Беляев, принявший на себя груз ответственности за становление и судьбу Института, формирование новых научных направлений, соотношение фундаментальных и прикладных исследований и решение практических задач. Под руководством Д.К. Беляева спектр проводимых в Институте исследований существенно расширился за счет новых направлений – хромосомной и генной инженерии, физиологической генетики, математической биологии и др. Институт стал крупным научным центром, широко известным своими достижениями как в стране, так и за рубежом. После кончины академика Д.К. Беляева в ноябре 1985 г. коллектив ИЦиГ возглавил В.К. Шумный. В 1990-е годы, когда российская наука переживала трудные времена, связанные с отсутствием надежного финансирования, массовым оттоком ученых за рубеж, дефицитом средств на приобретение современного оборудования и приборов, перед руководством Института стояла непростая задача сохранения и дальнейшего развития кадрового потенциала и материально-технической базы Института. Сейчас очевидно, что эту задачу удалось решить. При академике В.К. Шумном окончательно оформилась основополагающая идея развития Института – интеграция молекулярных, клеточных, онтогенетических, популяционных и биоинформатических исследований для понимания генетических механизмов изменчивости и эволюции. С 2007 г. коллектив Института работает под руководством академика Н.А. Колчанова.

Научная и методологическая стратегия, заключающаяся в комплексном подходе к изучению основных уровней организации живой материи на базе сочетания экспериментальных и теоретических методов, определила уникальность Института и позволила ему занять достойное место среди российских и зарубежных научных учреждений соответствующего профиля. Институту принадлежат лидерские позиции по целому ряду наиболее важных и перспективных направлений биологии, а также разработке новых биотехнологий.



Директор Института
с 1957 по 1959 гг.
академик Н.П. Дубинин



Директор Института
с 1959 по 1985 гг.
академик Д.К. Беляев



Директор Института
с 1986 по 2007 гг.
академик В.К. Шумный

ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ РАБОТ

Постановлением Президиума РАН № 299 от 22.04.2008 ИЦиГ СО РАН определена следующая тематика исследований, выполняемых в рамках бюджетного финансирования.

- Молекулярная генетика. Структурно-функциональная организация генома, протеома и хромосом. Реконструкция геномов, трансгенез у животных и растений. Механизмы реализации генетической информации. Биоинформатика, биотехнологии, биоинженерия, нанобиоинженерия.
- Клеточная биология, теоретические основы клеточных технологий. Молекулярные основы иммунитета и онкогенеза. Хромосомо- и генодиагностика наследственных и мультифакторных заболеваний.
- Биология развития и эволюция живых систем. Генетические и генетико-эволюционные основы функционирования физиологических систем, обеспечивающих важнейшие процессы жизнедеятельности.
- Общая генетика. Экологические, популяционно-генетические и эволюционные основы биоразнообразия. Разработка новых методов генетики и селекции животных и растений для эффективного использования их генофондов.

КАДРОВЫЙ СОСТАВ И СТРУКТУРА ИНСТИТУТА

Штатное расписание института включает 689,5 бюджетных ставок. В Институте работают 3 действительных члена РАН, 1 член-корреспондент РАСХН, 1 член-корреспондент РАМН, 61 доктор и 220 кандидатов наук, 120 научных сотрудников без степени. В структуре Института функционирует 4 отдела, 28 лабораторий, 4 сектора, 10 секторов, входящих в состав лабораторий, а также необ-

ходимые вспомогательные подразделения и службы.

Важную часть жизни Института составляют три межлабораторных семинара, объединяющие группы подразделений по научным тематикам:

- генетика животных,
- генетика растений,
- молекулярная генетика, клеточная биология и биоинформатика.

На семинарах обсуждаются вопросы, касающиеся научной, образовательной, производственной и издательской деятельности, а также кадровой политики подразделений Института. Решения межлабораторных семинаров являются рекомендательными для ученого и диссертационного советов Института. Ежегодно проводится отчетная сессия, на которой подробно освещается и анализируется работа лабораторий, входящих в тот или иной семинар.

Межлабораторные семинары включают следующие научные подразделения.

Межлабораторный семинар по генетике животных

- Лаборатория эволюционной генетики (А.Л. Маркель)
- Отдел генофондов экспериментальных животных (М.П. Мошкин)
 - Лаборатория экологической генетики млекопитающих (М.П. Мошкин)
 - Сектор криоконсервации и репродуктивных технологий (С.Я. Амстиславский)
 - Сектор генетики куных (О.В. Трапезов)
- Лаборатория рекомбинационного и сегрегационного анализа (П.М. Бородин)
- Лаборатория генетики развития (О.Л. Серов)
- Лаборатория генетики стресса (И.Ю. Раушенбах)
- Лаборатория генетики популяций (И.К. Захаров)
- Лаборатория эндокринологической генетики (А.В. Осадчук)



- Лаборатория нейрогеномики поведения (Н.К. Попова)
- Лаборатория физиологической генетики (Л.Н. Иванова)
- Лаборатория функциональной нейрогеномики (Н.Н. Дыгало)
- Сектор нейрогенетики социального поведения (Н.Н. Кудрявцева)
- Лаборатория молекулярных основ генетики животных (А.Г. Ромащенко)
 - Сектор молекулярной эпидемиологии и эволюции человека (М.И. Воевода)
 - Межинститутский сектор палеогенетики (А.Г. Ромащенко)

Межлабораторный семинар по молекулярной генетике, клеточной биологии и биоинформатике

- Отдел молекулярной генетики (Т.И. Меркулова)
 - Лаборатория регуляции экспрессии генов (Т.И. Меркулова)
 - Лаборатория структуры генома (Г.М. Дымищ)
 - Сектор молекулярно-генетических механизмов белок-нуклеиновых взаимодействий (Л.К. Савинова)
 - Сектор геномной и постгеномной фармакологии (Н.Г. Колосова)
- Лаборатория молекулярной и клеточной биологии (В.А. Мордвинов)
 - Сектор мутагенеза и репарации (С.Н. Шелкунов)
- Лаборатория эволюционной биологии клетки (Э.М. Баричева)
 - Сектор эволюционной геномики хирономид (В.В. Голыгина)
- Лаборатория генетики клеточного цикла (С.А. Федорова)
- Лаборатория эпигенетики развития (С.М. Закиян)
- Лаборатория молекулярной биологии клетки (С.С. Богачев)
- Лаборатория морфологии и функции клеточных структур (Н.Б. Рубцов)

- Лаборатория молекулярных биотехнологий (С.Е. Пельтек)
 - Межинститутский молодежный сектор промышленной микробиологии (К.Н. Сорокина)
- Лаборатория популяционной этногенетики (Л.П. Осипова)
- Отдел системной биологии (Н.А. Колчанов)
 - Лаборатория эволюционной биоинформатики и теоретической генетики (Д.А. Афонников)
 - Лаборатория молекулярно-генетических систем (Ю.Г. Матушкин)
 - Сектор компьютерной протеомики (В.А. Иванисенко)
 - Сектор высокопроизводительных вычислений в биоинформатике (Н.Л. Подкольный)

Межлабораторный семинар по генетике растений

- Лаборатория хромосомной инженерии злаков (Л.А. Перишина)
 - Сектор генетики качества зерна (Т.А. Пшеничникова)
- Лаборатория молекулярной генетики и цитогенетики растений (Е.А. Салина)
 - Сектор цитогенетики злаков (О.Г. Силкова)
- Сектор генетики пшениц (Н.П. Гончаров)
- Сектор экспериментального моделирования эволюционных процессов (О.Э. Костерин)
- Сектор симбиогенетики бобовых растений (К.К. Сидорова)
- Лаборатория генной инженерии (А.В. Кочетов)
- Лаборатория биоинженерии растений (Е.В. Дейнеко)
- Лаборатория генофондов и генетики систем размножения растений (А.В. Железнов)
- Отдел генофондов экспериментальных растений (С.Г. Вепрев)
 - Лаборатория прикладной агробиотехнологии растений (В.Е. Козлов)

Межлабораторный семинар

ГЕНЕТИКА ЖИВОТНЫХ



Подразделения семинара

Лаборатория эволюционной генетики

Отдел генофондов экспериментальных животных

- Лаборатория экологической генетики млекопитающих
- Сектор криоконсервации и репродуктивных технологий
- Сектор генетики кунных

Лаборатория рекомбинационного и сегрегационного анализа

Лаборатория генетики развития

Лаборатория генетики стресса

Лаборатория генетики популяций

Лаборатория эндокринологической генетики

Лаборатория нейрогеномики поведения

Лаборатория физиологической генетики

Лаборатория функциональной нейрогеномики

Сектор нейрогенетики социального поведения

Лаборатория молекулярных основ генетики животных

- Сектор молекулярной эпидемиологии и эволюции человека
- Межинститутский сектор палеогенетики



Заведующий А.Л. Маркель,
д.б.н., профессор
e-mail: markel@bionet.nsc.ru

лаборатория ЭВОЛЮЦИОННОЙ ГЕНЕТИКИ

Основные направления научных исследований

- Изучение эволюционных и молекулярно-генетических механизмов процесса доместикации на модели животных – серебристо-черных лисиц, разводимых в Экспериментальном хозяйстве ИЦиГ СО РАН, и серых крысах – *Rattus norvegicus* (виварий).
- Изучение генетико-физиологических механизмов и эволюционных предпосылок формирования социально значимых болезней человека – гипертонической болезни и психопатологических состояний.
- Проведение генетико-селекционной работы с уникальными, полученными в лаборатории, экспериментальными моделями:
 - популяции доместичированных и агрессивных лисиц;
 - популяции доместичированных и агрессивных серых крыс;
 - линия крыс НИСАГ (ISIAH) с наследственной артериальной гипертензией;
 - линии крыс ГК и МД с психопатологическими формами поведения.

При использовании наиболее информативных, амплифицирующихся на лисей ДНК микросателлитных маркеров собак сконструирована первая версия мейотической карты лисиц: 283 маркера локализованы на хромосомах 635 лисиц из 137 родословных (Kukekova *et al.*, 2007).

Анализ ассоциаций признаков доместикации с микросателлитными маркерами выявил генетический локус на 12-й хромосоме лисиц. Интервальное картирование (GridQTL analysis) подтвердило наличие QTL в том же регионе. Выявленный участок 12-й хромосомы лисицы гомологичен региону на хромосоме 5 собаки. Именно этот район хромосомы был идентифицирован у собак и волков как локус, вовлеченный в доместикацию собак (von Holdt *et al.*, 2010) (рис. 1).

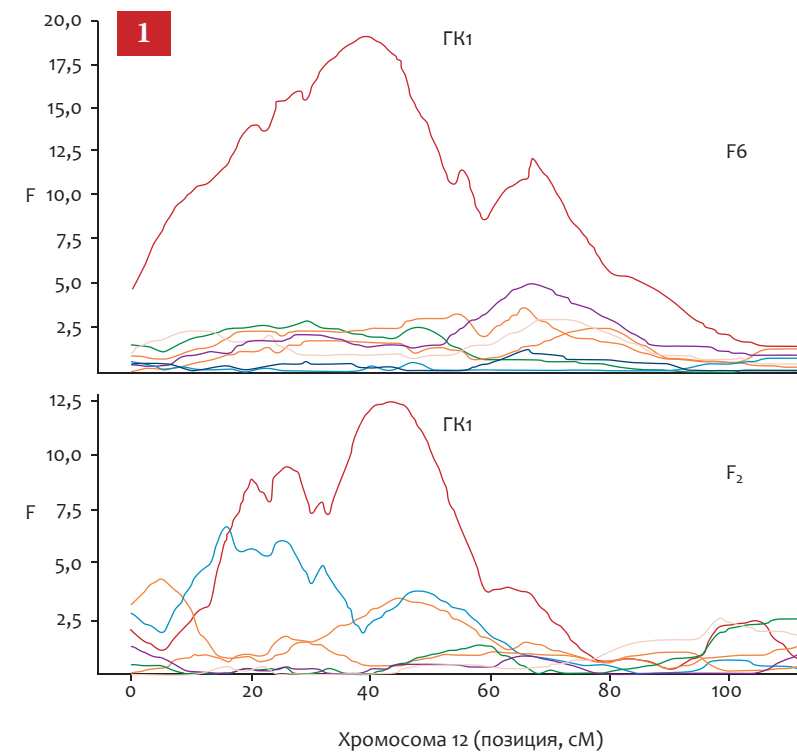
Показано влияние поведения матери при вскармливании как фактора модификации поведения и эндокринной функции потомства серых крыс. Воспитание крысят из ручной популяции самками агрессивной линии привело к повышению гормонального ответа на стресс до уровня агрессивных крыс. Показаны эффекты метилсодержащей диеты матери на способность потомков к обучению, их гормональные

реакции и интенсивность окраски шерсти.

На популяции доместичированных серых крыс с помощью 200 микросателлитов идентифицированы два локуса, ответственных за спокойное по отношению к человеку поведение. Эти локусы включают также гены, контролирующие массу надпочечников и другие поведенческие признаки. Снижение агрессивности серых крыс связано с усилением экспрессии глюкокортикоидных рецепторов в отделах мозга (гиппокамп) и отрицательной обратной связи в системе регуляции стресса, подавляющей стрессовую реакцию (рис. 2).

С помощью более 500 микросателлитов проведено сканирование генома гипертонивных крыс НИСАГ с целью определения локусов количественных признаков. Проанализировано 28 физиологических признаков, для которых найдены локусы на хромосомах крысы (рис. 3). В выявленных локусах с помощью микрочипов идентифицированы гены с дифференциальной экспрессией (гены-кандидаты) по сравнению с нормотонивной линией WAG. С помощью ПЦР в реальном времени в корковом и мозговом веществах почек крыс НИСАГ и WAG в покое и при стрессе показана разница в экспрессии генов: *Rcl* (putative c-Myc-responsive), *Comt* (catechol-O-methyltransferase), *Egf* (epidermal growth factor) и его рецептора *Egfr* (epidermal growth factor receptor), α -*ENaC* (epithelial sodium channel, alpha).

Блокада транскрипционной активности гена рецепторов ангиотен-



зина-II в структурах мозга с помощью антисмысловых олигонуклеотидов приводит к длительному и значительному снижению АД у крыс линии НИСАГ. Через эти рецепторы происходит активация симпатической системы. Показано, что эмоциональный стресс у гипертонивных крыс НИСАГ приводит к парадоксально высокой реакции альдостерона, что вызывает длительный постстрессорный эффект – повышение АД.

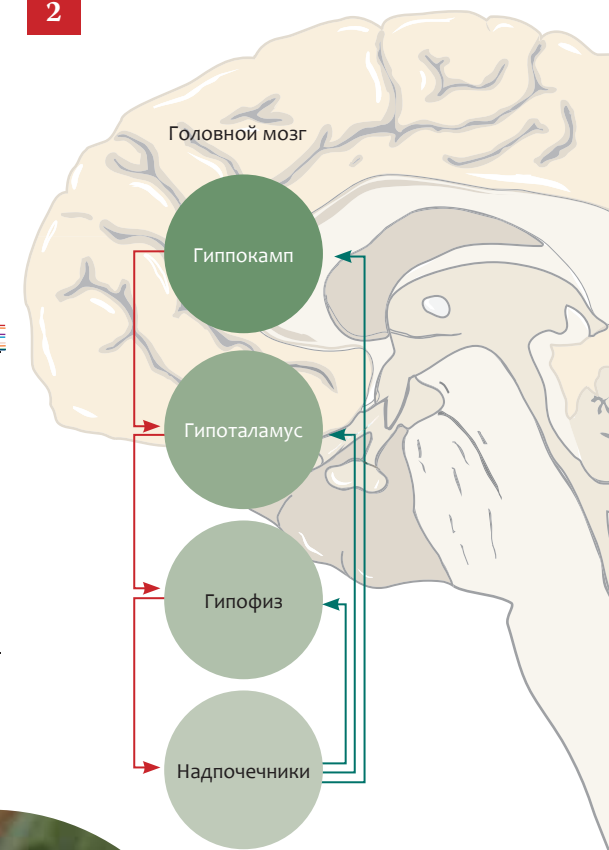
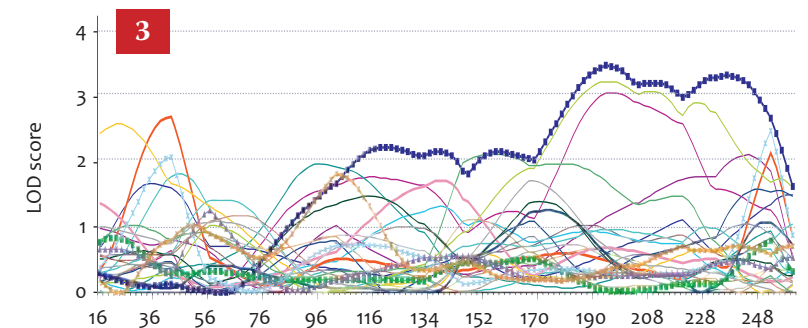
В итоге подтверждена роль генов, участвующих в детерминации симпатической нервной активности, и генов, кодирующих транспорт ионов почкой, в патогенезе стресс-зависимой гипертонии у крыс НИСАГ.

Впервые показано, что наличие полиморфизма кристаллической решетки аминокислоты глицина может определять выраженность его эффектов на поведение. Опыты проделаны на линии крыс ГК с генетической каталепсией.

Рис. 1. Результаты QTL-анализа главных компонент (ГК 1–10) в популяциях беккроссов (F6) и F₂. Красная линия – ГК 1, дифференцирующая лисиц по степени доместикационного поведения. По оси y – значения F статистики ANOVA. По оси x – позиция в cM на 12-й хромосоме. Граничное значение для F6: F = 12,73 для p = 0,05; для F₂: F = 13,37, для p = 0,05.

Рис. 2. Открыт один из важных механизмов снижения агрессивности за счет увеличения экспрессии глюкокортикоидных рецепторов в отделах мозга и усиления механизма отрицательной обратной связи в системе регуляции стрессовых реакций.

Рис. 3. Значение ассоциаций (LOD score) 28 признаков, которые обозначены цветными линиями, с локусами на 1-й хромосоме крысы. В том числе базальный уровень АД (■).



Прямые положительные (красные стрелки) и обратные отрицательные (зеленые стрелки) связи в гормональной системе регуляции стресса.





Заведующий М.П. Мошкин,
д.б.н., профессор
e-mail: mmp@bionet.nsc.ru

лаборатория

ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ГЕНЕТИКИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Основное направление научных исследований

- Изучение этологических и иммуно-физиологических механизмов гетерогенного воспроизводства как основы поддержания генетического разнообразия в популяциях млекопитающих, существующих на фоне паразитарного пресса (в широком смысле).

В рамках данного направления установлено, что половые хемосигналы самок стимулируют не только генеративную функцию самцов, но и мукозальный иммунитет, обеспечивая защиту от респираторных инфекций, риск которых возрастает при ольфакторном поиске половых партнеров. Принципиально важно, что в отличие от ингаляции препаратов на основе бактериальных компонентов иммуномодуляция запахowymi стимулами происходит без активации механизмов стресса (рис. 1).

Паразитарная неизбежность не только приводит к относительно редким инфекционным болезням, но и создает предпосылки для спорадической стимуляции механизмов иммунной защиты. Как показали наши исследования, экспериментальная активация неспецифического и специфического иммунитета самцов мышей снижает их запахovou привлекательность. Но при отсутствии выбора интактные самки, подсаженные к антигенстимулированным самцам, приносят больше потомков. В реализации этого эффекта участвуют локальные иммунные процессы, в частности лейкоцитарная секреция цитокинов в семенную жидкость

(рис. 2). При этом у самок, покрытых самцами с детектируемым уровнем фактора некроза опухолей (ФНО- α) в семенной жидкости, отмечается большая масса эмбрионов. Наряду с объяснением парадоксального роста воспроизводства в популяциях млекопитающих на фоне высокого разнообразия паразитов развитие наших исследований дает основу для разработки новых технологий управления репродукцией при индустриальном разведении животных, а также при реализации программ по сохранению редких и исчезающих видов млекопитающих.

Совместно с лабораторией молекулярных основ генетики животных ИЦиГ СО РАН исследовано распространение однонуклеотидного полиморфизма 824A/G промотора гена ФНО- α у пород крупного рогатого скота и зубров. Популяционная частота аллеля G, характеризующегося пониженной экспрессией мРНК, варьирует от 48–58 % у коров специализированных молочных и мясных пород до 77 % у якутского скота и до 100 % у диких зубров. Изучение коров черно-пестрой породы показало, что носители аллеля G быстрее выводятся из хозяйственного оборота, чем носители аллеля A. Гомозиготы G/G отличаются от гетерозигот G/A и гомозигот A/A значительной изменчивостью надоев в ходе лактации, обусловленной полом рожденного теленка (рис. 3). Изменение ресурсного вклада в лактацию в соответствии с запросами новорожденных мужского

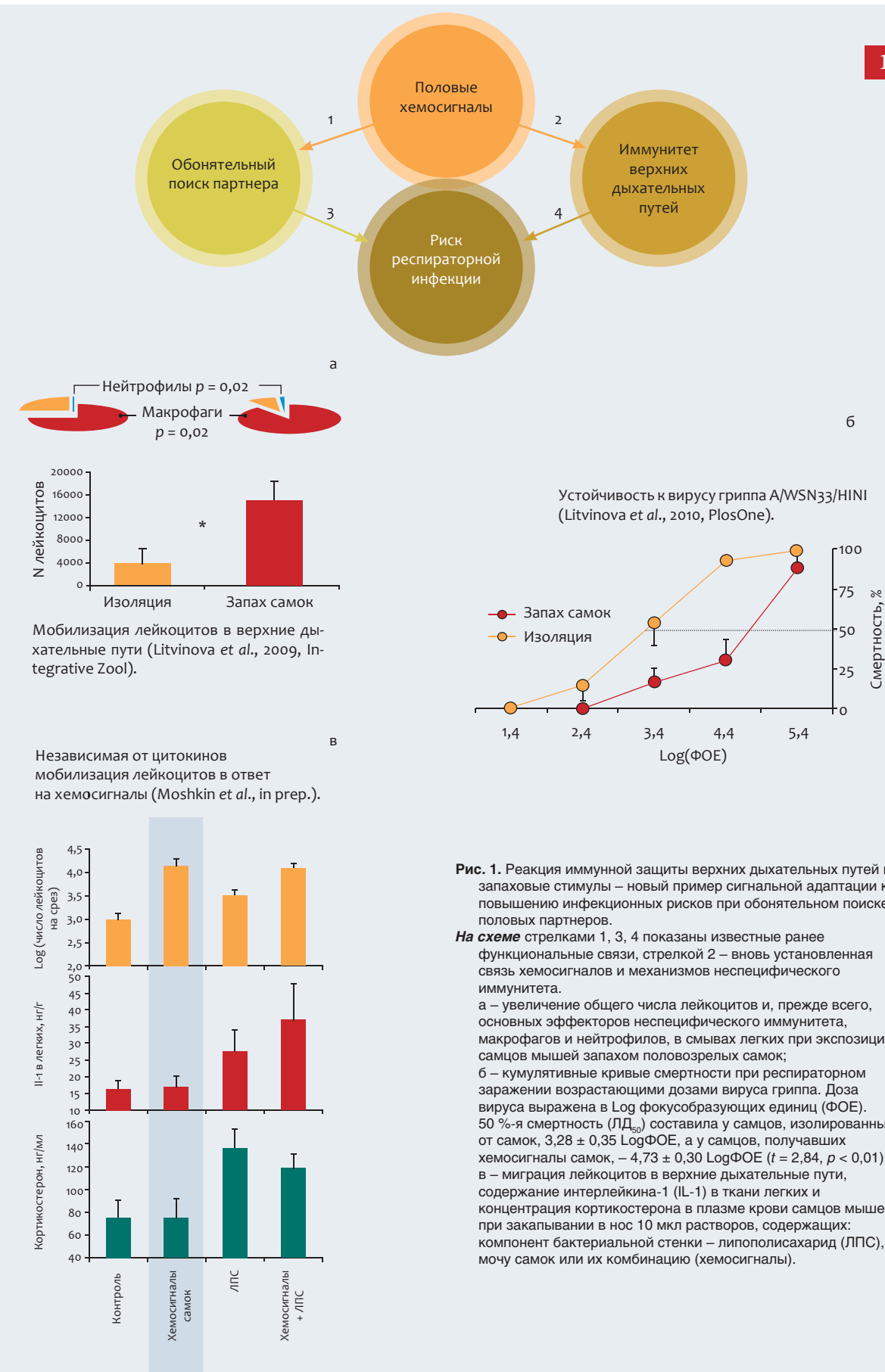
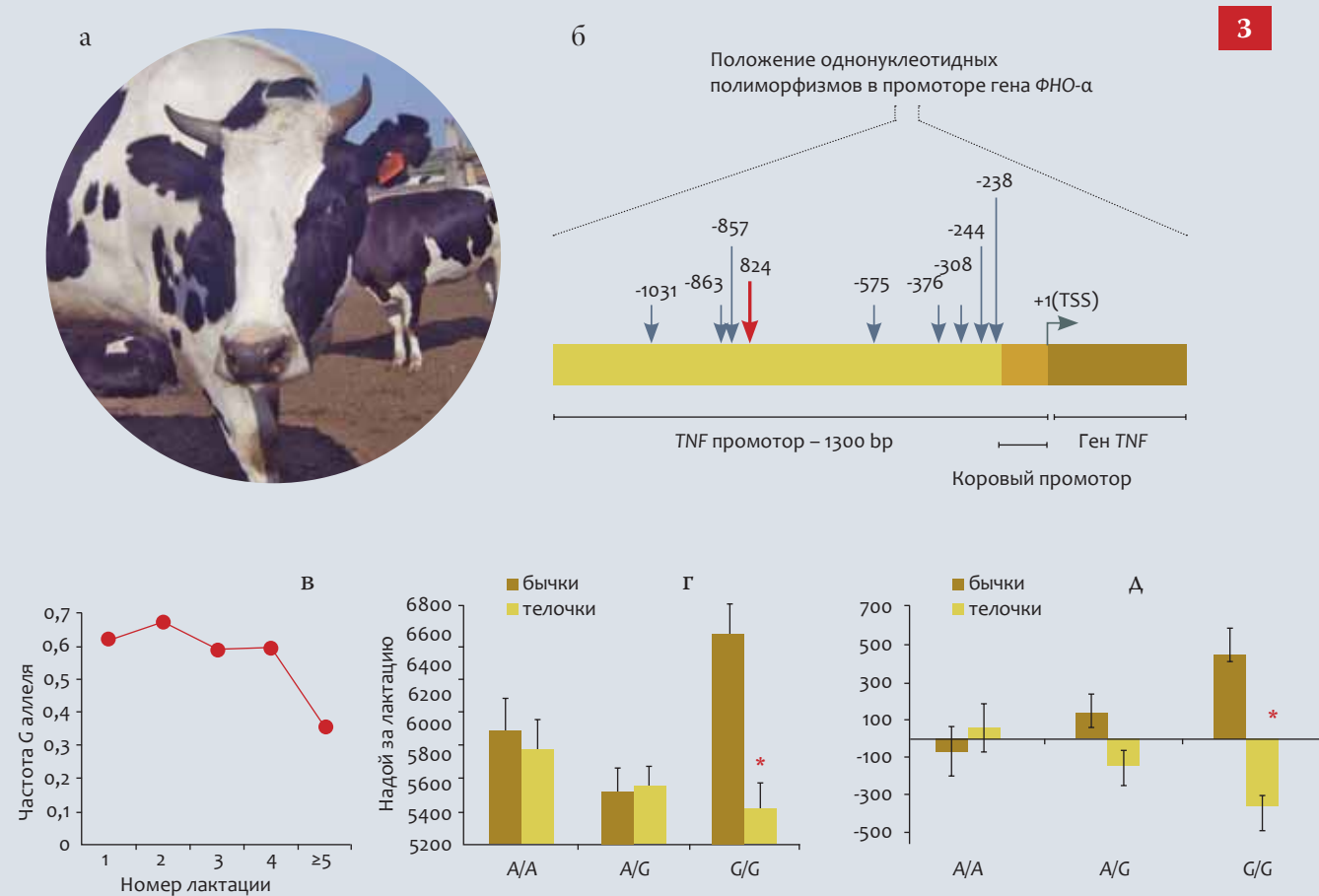
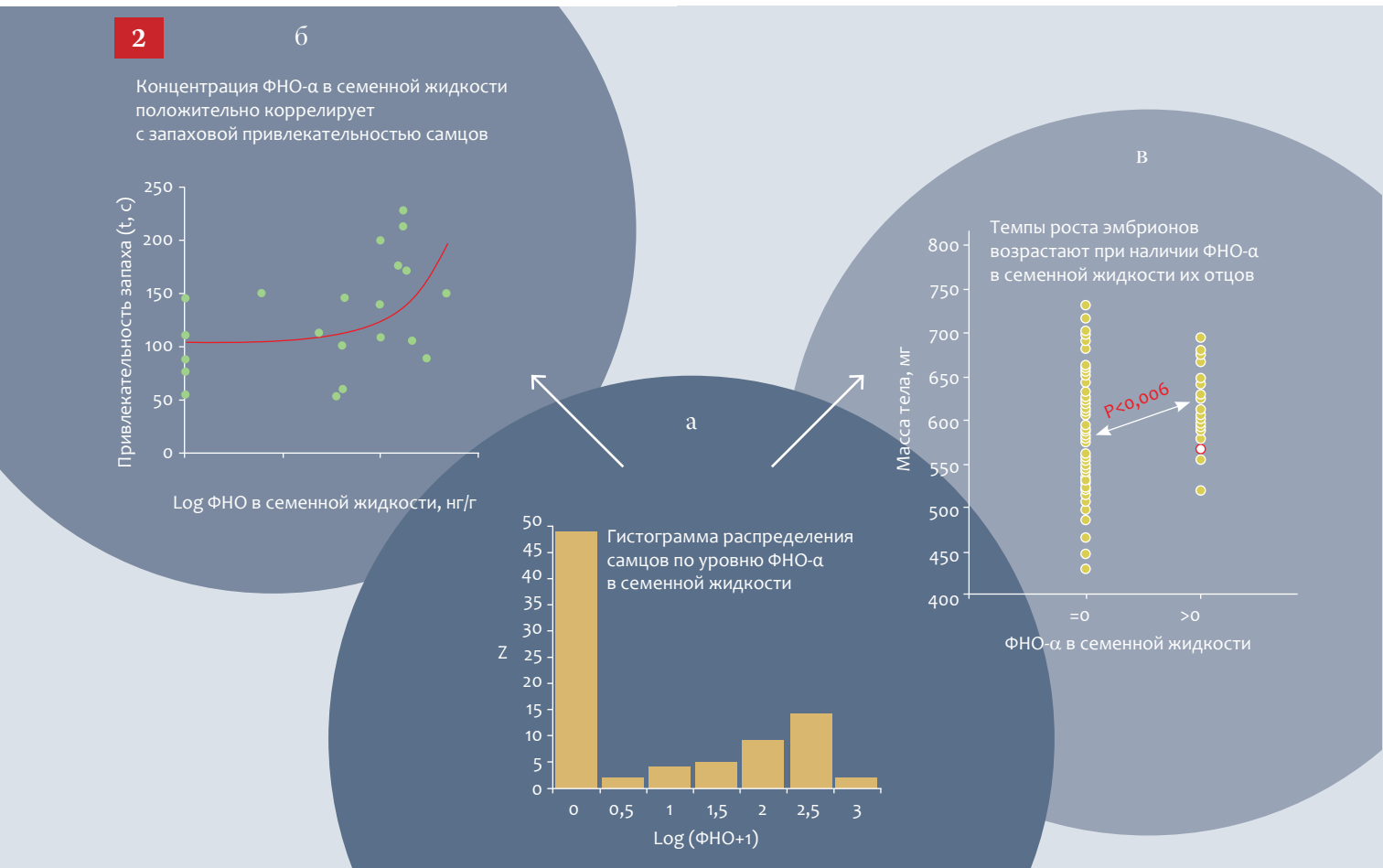


Рис. 1. Реакция иммунной защиты верхних дыхательных путей на запаховые стимулы – новый пример сигнальной адаптации к повышению инфекционных рисков при обонятельном поиске половых партнеров.

На схеме стрелками 1, 3, 4 показаны известные ранее функциональные связи, стрелкой 2 – вновь установленная связь хемосигналов и механизмов неспецифического иммунитета. **а** – увеличение общего числа лейкоцитов и, прежде всего, основных эффекторов неспецифического иммунитета, макрофагов и нейтрофилов, в смывах легких при экспозиции самцов мышей запахом половозрелых самок; **б** – кумулятивные кривые смертности при респираторном заражении возрастающими дозами вируса гриппа. Доза вируса выражена в Log фокусобразующих единиц (ФОЕ). 50 %-я смертность (LD_{50}) составила у самцов, изолированных от самок, $3,28 \pm 0,35$ LogФОЕ, а у самцов, получавших хемосигналы самок, – $4,73 \pm 0,30$ LogФОЕ ($t = 2,84$, $p < 0,01$); **в** – миграция лейкоцитов в верхние дыхательные пути, содержание интерлейкина-1 (IL-1) в ткани легких и концентрация кортикостерона в плазме крови самцов мышей при закапывании в нос 10 мкл растворов, содержащих: компонент бактериальной стенки – липополисахарид (ЛПС), мочу самок или их комбинацию (хемосигналы).



или женского пола имеет большую адаптивную ценность для коров в дикой природе и меньшую ценность для животноводства.

При участии лаборатории в ИЦиГ СО РАН разработан алгоритм комплексной оценки биоопасных эффектов наночастиц. Экспериментально обосновано, что наночастицы (Таркосил 25) вызывают больший воспалительный эффект в респираторной системе по сравнению с микрочастицами одинакового химического состава (рис. 4).

Расширение породного разнообразия пушных и лабораторных животных

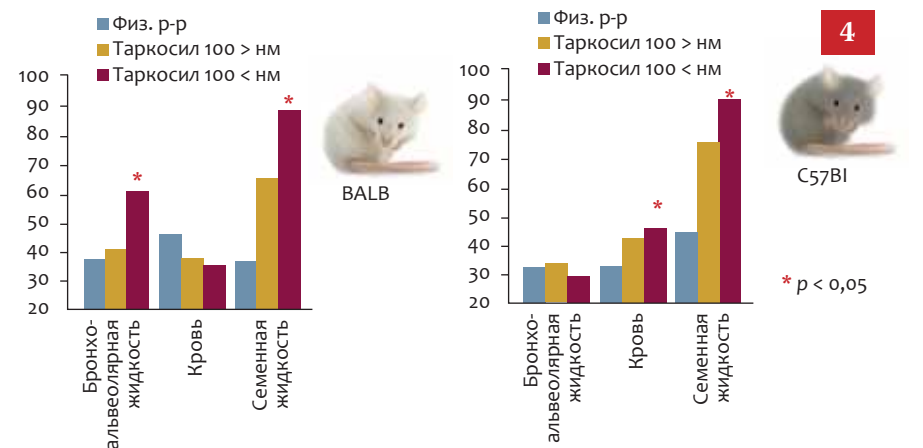
На основе метода создания компаундных геномов получена первая группа новых лабораторных животных – микросибс (супермелкая сибирская свинья, рис. 5). Научно-практическая значимость микросибсов определяется международными требованиями к испытаниям новых материалов, средств и методов лечения болезней, которые предписывают в дополнение к исследованиям на лабораторных мышах и крысах проводить исследования на млекопитающих, не принадлежащих к отряду грызунов.

Рис. 2. Индивидуальная изменчивость концентрации ФНО-α в семенной жидкости мышей (а) сопряжена с метаболическими процессами, формирующими сигналы запаховой привлекательности самцов (б) и с процессами, которые определяют характеристики семени, значимо влияющие на эмбриональное развитие потомков (в).

Рис. 3. Хозяйственная значимость однонуклеотидного полиморфизма 824A/G промотора гена ФНО-α у коров черно-пестрой породы (а); б – положение однонуклеотидной замены в промоторе гена ФНО-α; в – изменение доли носителей G аллеля от 1-й к 5-й и далее лактациям; г – надои в расчете на 305 дней лактации у коров разных генотипов; д – изменение надоев относительно индивидуальных средних значений у коров, родивших бычка или телочку.

Рис. 4. Лейкоцитарная реакция мышей линий BALB и C57Bl на введение в верхние дыхательные пути Таркосила 25.

Рис. 5. Микросибс (супермелкая сибирская свинья, вес – 11 кг, возраст – 4,5 месяца).





Заведующий С.Я. Амстиславский, д.б.н.
e-mail: amstis@bionet.nsc.ru

сектор КРИОКОНСЕРВАЦИИ И РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Основные направления научных исследований

- Изучение фундаментальных основ репродуктивной биологии млекопитающих с учетом видовой специфики.
- Отработка технологии криоконсервации мышей и крыс.
- Освоение методов перевода конвенциональных животных в SPF - статус (редеривация).

Работы проводились преимущественно на представителях семейства кунных, в том числе на европейской норке. Были проведены эксперименты по преодолению репродуктивного барьера при трансплантации эмбрионов от исчезающего вида (европейской норки) самкам-реципиентам хорька и межвидовым гибридам (хонорикам). При помощи современных методов эмбриологии и эндокринологии в сочетании с традиционными методами гистологии были исследованы особенности протекания ранней беременности у европейской норки во время пре- и периимплантационной стадий развития (Amstislavsky *et al.*, 2006).

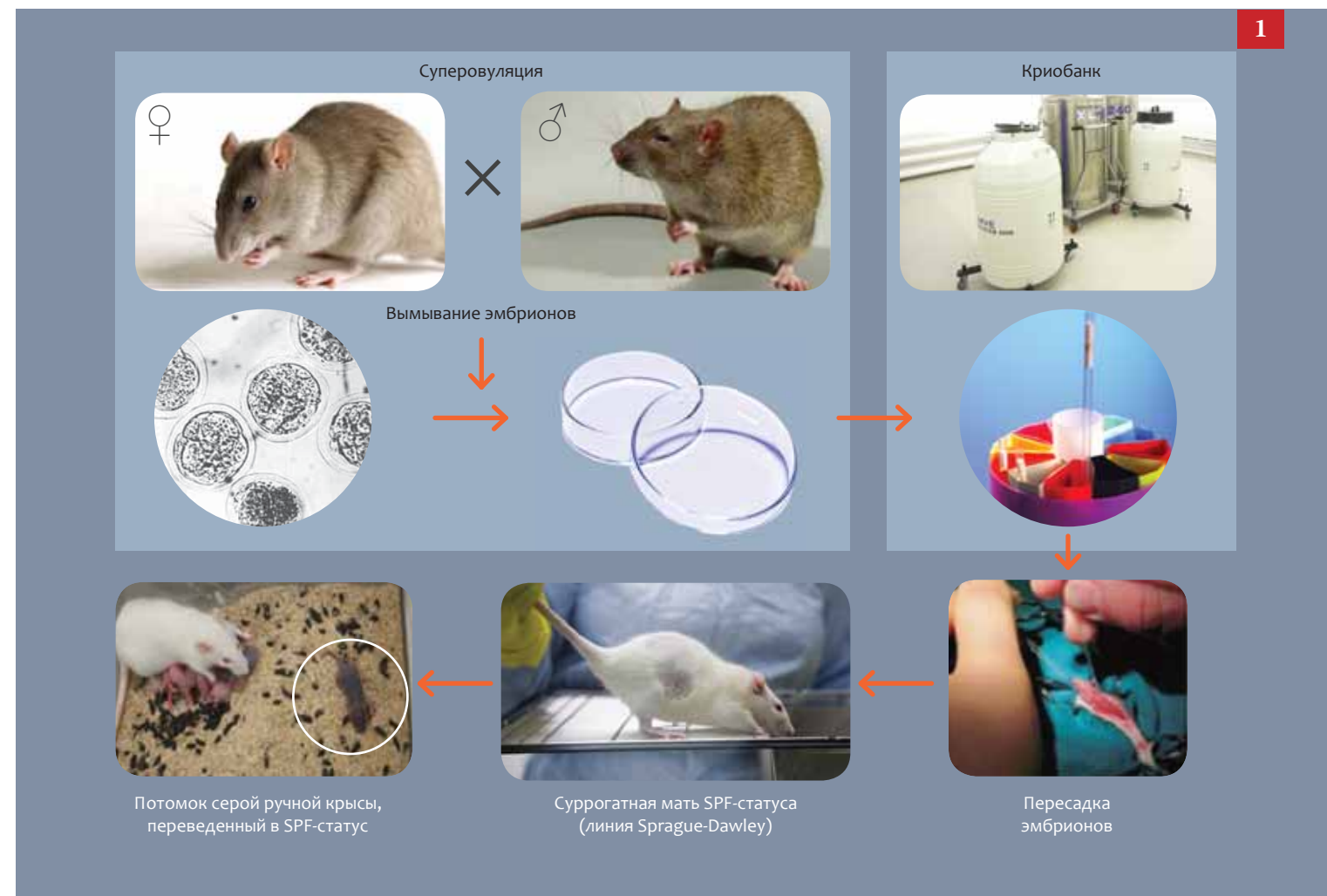
Было детально изучено преимплантационное развитие зародышей этого вида с момента овуляции ооцитов и оплодотворения до имплантации зародышей, которая, как выяснилось, происходит у европейской норки на 12-й день после спаривания. Обнаружено сходство развития зародышей у европейской норки и черного хорька, причем, как было показано, у европейской норки так же, как и у хорька, отсутствует диапауза (Amstislavsky *et al.*, 2006, 2009; Амстиславский и др., 2010).

Исследование содержания прогестерона в фекалиях европейской норки позволило охарактеризовать прогестероновый профиль во время беременности (Amstislavsky *et al.*, 2009) и провести сравнение с черным хорем (Амстиславский и др., 2010). Были выявлены существенные межлинейные различия (Амстиславский и др., 2010; Amstislavsky *et al.*, 2010). Исследованы постимплантационные этапы развития зародышей европейской норки и хорька, при этом обнаружены межлинейные различия, а также уникальные особенности постимплантационного онтогенеза, присущие представителям семейства

кунных. Обнаружено, в частности, что на всем протяжении плодного периода беременности у кунных наряду с метанефросом (конечной почкой) сохраняется мезанефрос (Кизилова и др., 2010).

Изучение репродуктивной биологии европейской норки позволило найти способ преодоления межвидового барьера при трансплантации эмбрионов этого вида кунных. Описанный выше цикл работ по репродуктивной биологии и эмбриотехнологии кунных позволил сформулировать некоторые общие положения, применимые и для сохранения других видов млекопитающих.

Среди критических технологий, освоение которых является необходимым условием формирования на базе ЦКП «SPF-виварий» ИЦиГ СО РАН Центра генетических ресурсов лабораторных животных, являются технологии редеривации, т. е. перевод конвенциональных животных в статус организмов, свободных от видоспецифических патогенов (specific pathogen free – SPF), и криоконсервации. Выполнена работа по редеривации уникальной линии «ручных» крыс, полученных в ИЦиГ СО РАН путем селекции. Для этого у самок-доноров ручной линии были извлечены эмбрионы на доимплантационной стадии развития и пересажены суррогатным матерям SPF-статуса линии Sprague-Dawley (рис. 1). В результате этого эксперимента в коллекции SPF-вивария появилась линия «ручных» крыс из популяции конвенционального вивария, переведенная в SPF-статус при помощи трансплантации эмбрионов и редеривации.



Для перемещения материалов из зон с разной степенью стерильности разработаны методы защиты, эффективность которых подтверждена бактериологическим контролем. В работах по криоконсервации показано, что при оптимальном режиме охлаждения выход жизнеспособных зародышей достигает 80–100 %. В комплексе эти работы закладывают технологические основы для создания первого в Российской Федерации криопортала, обеспечивающего обмен уникальными лабораторными животными с Международными федерациями генетических ресурсов.



Рис. 1. Основные этапы освобождения от видоспецифических патогенов (редеривация) конвенциональных животных путем пересадки эмбрионов стерильным суррогатным матерям.
Рис. 2. Инструментальное обеспечение сектора криоконсервации и репродуктивных технологий.



Заведующий О.В. Трапезов, к.б.н.
e-mail: trapezov@bionet.nsc.ru

сектор
ГЕНЕТИКИ КУНЬИХ

- Основное направление научных исследований
- Изучение эффектов дестабилизирующего отбора на примере американской норки (*Mustela vison* Schreber, 1777).

При использовании эффектов дестабилизирующего отбора, открытого Д.К. Беляевым, была разработана технология получения новых не имеющих аналогов оригинальных окрасочных форм американской норки клеточного разведения.

На основе возникших в доместичируемой популяции норок новых полудоминантных мутаций, затрагивающих окраску, а также уже известных мутаций окраски, модифицированных генами, контролирующими поведение, созданы 4 новые оригинальные коммерческие окраски норок, отмеченные патентами и получившие медали на всероссийских специализированных агропромышленных выставках.

Новые оригинальные типы окраски американской норки, созданные в ИЦиГ и представленные на всероссийских агропромышленных выставках ВВЦ (Москва)

Решением Государственной экспертной комиссии два окрасочных типа Черный хрусталь и Снежный топаз внесены в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию.

- Патент № 2010514 на изобретение: «Способ разведения норок» от 15.04.1994.
- Патент № 3011 на селекционное достижение: Норки американские (*Mustela vison* Schreber, 1777) – «Черный хрусталь» от 7.02.2006.
- Авторское свидетельство № 41547 Норки американские «Черный хрусталь» от 19.01.2006.
- Патент № 5356 на селекционное достижение: Норки американские (*Mustela vison* Schreber, 1777) – «Снежный топаз» от 12.04.2010.
- Авторское свидетельство № 50544 Норки американские «Снежный топаз» от 12.04.2010.



Черный хрусталь



Снежный топаз

Товарное название	Генотип	Фенотип	Годы	Оценка экспертной комиссии
Черный хрусталь	$C_R/+$		2005 2006 2007 2008 2009 2010	Золотая медаль ВВЦ Золотая медаль ВВЦ Золотая медаль ВВЦ Золотая медаль ВВЦ Серебряная медаль ВВЦ Серебряная медаль ВВЦ
Снежный топаз	$C_R/+ \ t^s/t^s \ b/b$		2005 2006 2007 2008 2009 2010	Золотая медаль ВВЦ Золотая медаль ВВЦ Золотая медаль ВВЦ Золотая медаль ВВЦ Серебряная медаль ВВЦ Серебряная медаль ВВЦ
Стандартный леопард	$S^s/+$		2005 2006 2007 2008 2009 2010	Золотая медаль ВВЦ Золотая медаль ВВЦ Золотая медаль ВВЦ Золотая медаль ВВЦ Серебряная медаль ВВЦ Серебряная медаль ВВЦ
Сапфировый леопард	$S^s/+ \ a/a \ p/p$		2005 2006 2007 2008 2009 2010	Золотая медаль ВВЦ Золотая медаль ВВЦ Золотая медаль ВВЦ Золотая медаль ВВЦ Серебряная медаль ВВЦ Серебряная медаль ВВЦ



Заведующий П.М. Бородин,
д.б.н., профессор
e-mail: borodin@bionet.nsc.ru

лаборатория
РЕКОМБИНАЦИОННОГО И
СЕГРЕГАЦИОННОГО АНАЛИЗА

Основные направления научных исследований

- Анализ молекулярных и цитогенетических механизмов синапсиса, рекомбинации и сегрегации хромосом в мейозе животных и роли этих процессов в эволюции популяций и видообразовании.
- Разработка и применение новых методов и алгоритмов рекомбинационного и сегрегационного анализа для идентификации и картирования генов сложных признаков человека и животных.

В лаборатории выполнен большой цикл исследований по изучению хромосомного полиморфизма в природных популяциях млекопитающих. Выявлены новые хромосомные перестройки в природных популяциях разных видов грызунов Европы, Азии и Южной Америки.

С применением современных методов электронно-микроскопического и иммунохимического анализа, флюоресцентной гибридизации *in situ* проводится исследование особенностей протекания мейоза, синапсиса, рекомбинации и сегрегации хромосом у межвидовых и внутривидовых гибридов разных видов млекопитающих и выявляются механизмы гибридной стерильности. Особое внимание уделяется исследованию внутри- и межвидового разнообразия отдельных видов млекопитающих и их гибридов по частоте и распределению рекомбинационных событий по геному (рис. 1).

Разработана серия алгоритмов и созданы пакеты программ для рекомбинационного и сегрегационного анализа качественных и количественных признаков по родословным произвольной структуры. С помощью этих методов были изучены модели наследования различных признаков у растений, животных и человека. В последнее время особое внимание уделяется картированию генов человека, контролирующих распространенные болезни. Обнаружены новые гены, детерминирующие болезнь Альцгеймера, гипертонию, ожирение. Изучается генетический контроль количественных признаков человека, характеризующих особенности морфологии и поведения. В частности, идентифицированы новые гены, контролирующие рост человека (рис. 2).

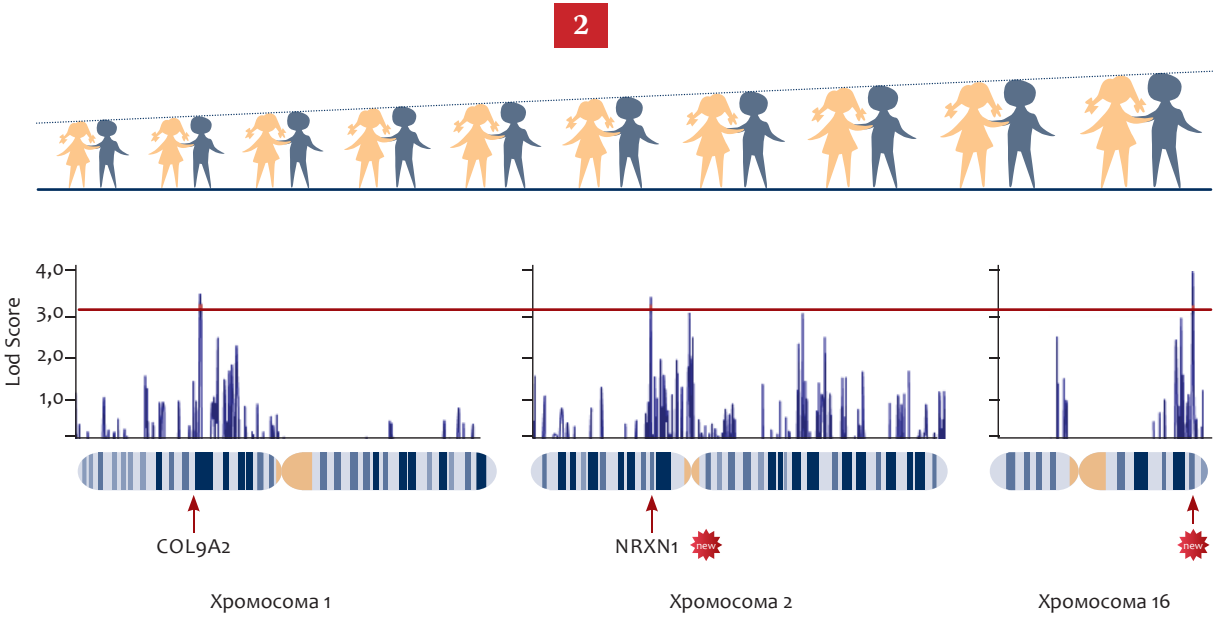
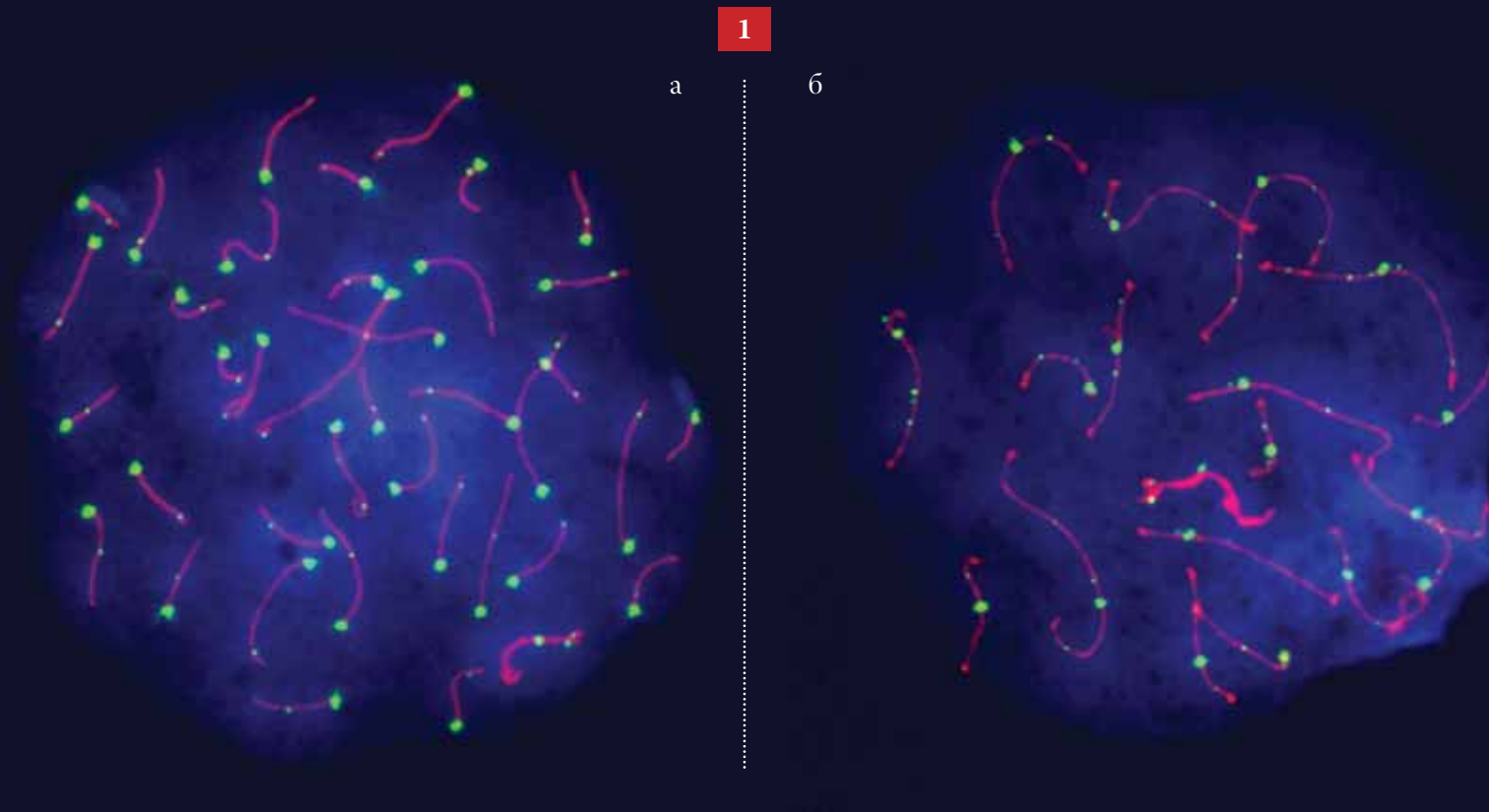


Рис. 1. Распластанные препараты сперматозоидов собаки (а) и кошки (б), окрашенные по DAPI (синий сигнал), а также меченными флюорохромами антителами к белкам синаптомембранного комплекса (красный), белкам центромер (крупный зеленый) и сайтов рекомбинации (мелкий зеленый).

Рис. 2. Результаты полногеномного картирования роста человека. На графиках представлены значения Lod Score на трех хромосомах, показавших значимое сцепление (Lod Score $\geq 3,3$). Внизу – диаграммы соответствующих хромосом и выявленные гены-кандидаты. Пик на хромосоме 1 находится в районе локализации известного гена, влияющего на рост человека. На хромосомах 2 и 16 обнаружены новые гены, детерминирующие этот признак.



лаборатория ГЕНЕТИКИ РАЗВИТИЯ

Заведующий О.Л. Серов,

д.б.н., профессор

e-mail: serov@bionet.nsc.ru

Основные направления научных исследований

- Индукция плюрипотентности в геномах соматических клеток, утративших ее при дифференцировке.
- Молекулярные механизмы перепрограммирования эпигенотипа дифференцированных клеток.

Лаборатории принадлежит приоритет использования гибридных клеток, генерированных слиянием эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) и соматических клеток, как эффективный способ репрограммирования генома дифференцированных клеток (Матвеева и др., 1996; Matveeva *et al.*, 1998). Наши усилия направлены на изучение молекулярных механизмов репрограммирования геномов дифференцированных клеток под влиянием генома ЭСК в гибридных клетках.

Основные достижения лаборатории в расшифровке механизмов репрограммирования геномов дифференцированных клеток:

Впервые показано, что гибридные клетки типа диплоидная ЭСК–диплоидный фибробласт, – имеющие околотетраплоидный кариотип, способны генерировать химерных эмбрионов (рис. 1, а) и даже взрослых животных (рис. 1, б). Впервые установлено, тетраплоидный кариотип – сумма хромосом ЭСК и фибробластов – сохраняется в процессе развития химер. Таким образом, выявлено полное доминирование генома ЭСК в гибридных клетках (Vasilkova *et al.*, 2005; Kruglova *et al.*, 2008).

Установлено, что репрограммирование начинается на стадии гетерокариона, когда ядра родительских клеток присутствуют отдельно в общей цитоплазме. Впервые выявлено, что на стадии гетерокариона происходит альтернативное доминирование, т. е. присутствуют два типа гетерокарионов – один тип с фенотипом ЭСК (позитивны по белкам «плюрипотентности» Oct4 и Nanog, отсутствие коллагена, фибронектина

и ламина А/С, свойственных фибробластам), и фибробласта (позитивные по коллагену, фибронектину, ламину А/С, негативные по Oct4 и Nanog). Оба типа гетерокарионов дают начало развитию двух типов гибридных клеток с альтернативными фенотипами либо типа ЭСК, либо фибробласта (Gridina, Serov, 2010). Билатеральное репрограммирование – новое слово в проблеме репрограммирования.

Анализ метилирования CpG-сайтов в промоторе гена *Oct4* показал, что в гибридных клетках с фенотипом ЭСК происходит деметилирование «фибробластного» аллеля, тогда как в гибридных клетках с фибробластным фенотипом происходит гиперметилирование аллеля ЭСК (рис. 2). Процесс метилирования/деметилирования завершается к 4-му дню после слияния ЭСК и фибробластов (Gridina, Serov, 2010).

Итогом наших исследований является расшифровка тайминга репрограммирования в гибридных клетках (рис. 3). Установлено, что репрограммирование начинается со стадии гетерокариона и завершается к 5–7-му дню после слияния ЭСК с соматическими клетками к моменту появления первичных колоний гибридных клеток (Serov *et al.*, 2011). Таким образом, слияние ЭСК с соматическими является эффективным способом репрограммирования геномов дифференцированных клеток.

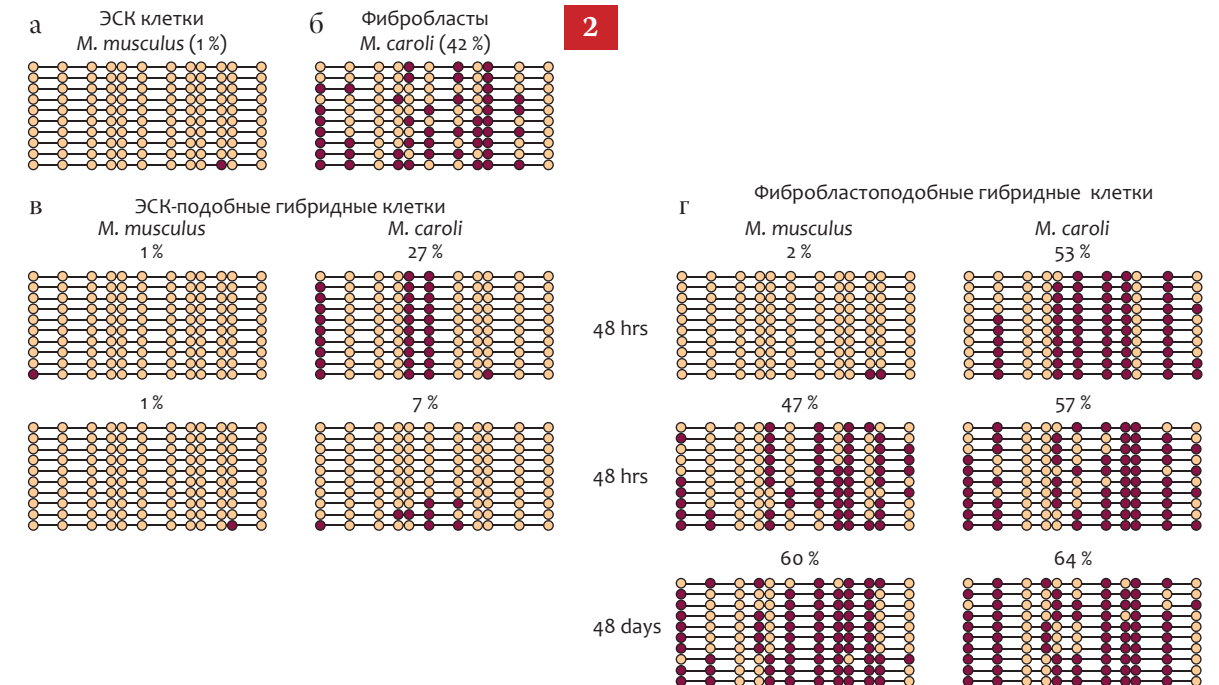
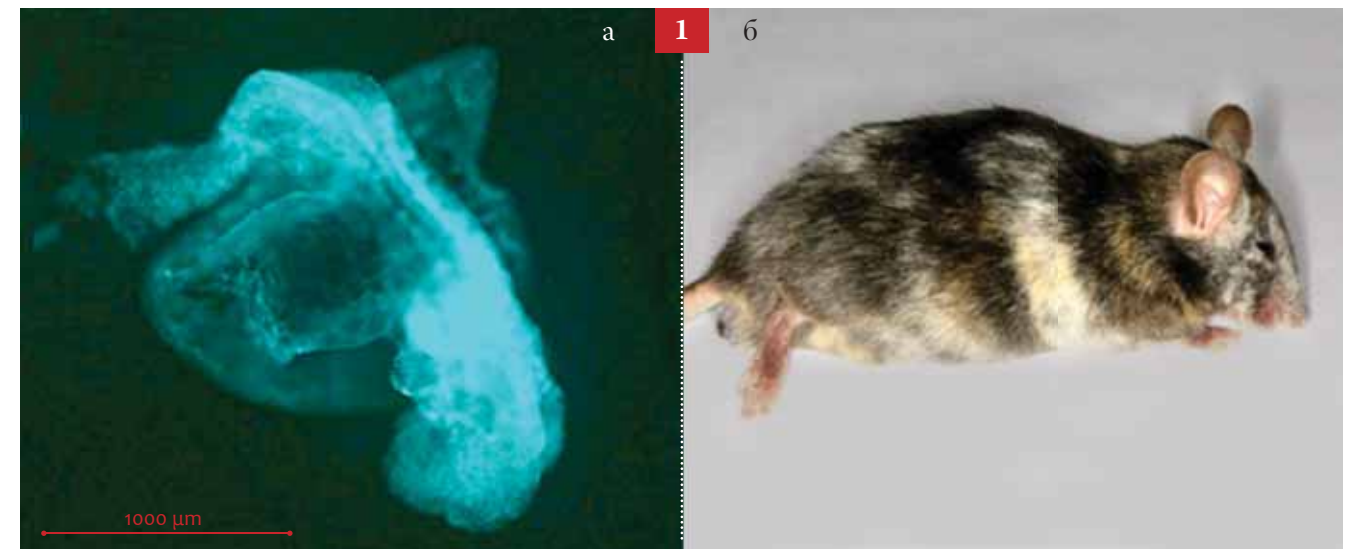
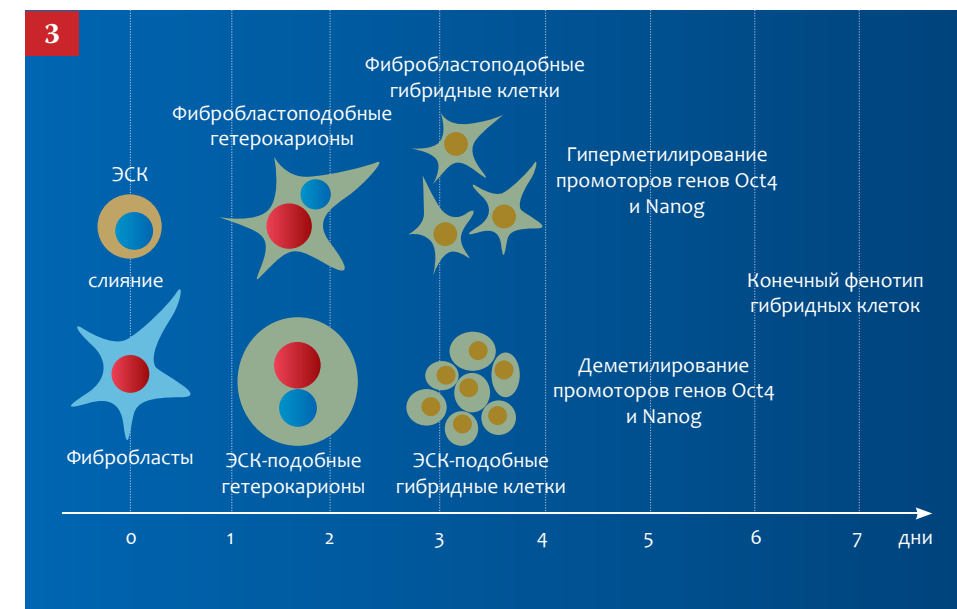


Рис. 1. Химеры, полученные инъекцией гибридных клеток ЭСК-фибробласт (клон tef4) с околотетраплоидным набором хромосом. а – 11-дневный эмбрион с высоким содержанием потомков гибридных клеток, меченных GFP (зеленое свечение); б – взрослый самец tef4#7-48 с ярко выраженным химеризмом по окраске (Kruglova *et al.*, 2008).

Рис. 2. Метилирование промотора гена *Oct4* в ЭСК (а) и фибробластах *M. caroli* (б). В скобках – метилирование, %; в – метилирование родительских аллелей в гибридных клетках с фенотипом ЭСК через 48 и 96 ч после слияния и г – в гибридных клетках с фенотипом фибробласта. Светлые кружки – неметилированные CpG-сайты, темные – метилированные.

Рис. 3. Схема тайминга образования гетерокарионов и гибридных клеток, формирования их альтернативных фенотипов и «закрепление» репрограммирования посредством эпигенетических механизмов (метилирование/деметилирование).





Заведующая И.Ю. Раушенбах,
д.б.н., профессор
e-mail: iraushen@bionet.nsc.ru

лаборатория ГЕНЕТИКИ СТРЕССА

Основное направление научных исследований

- Исследование молекулярно-генетических механизмов взаимодействия гормонов стресса, обеспечивающего адаптацию индивидуумов и популяций к неблагоприятным условиям, с использованием *Drosophila* в качестве модельного объекта.

В рамках этого направления впервые установлено:

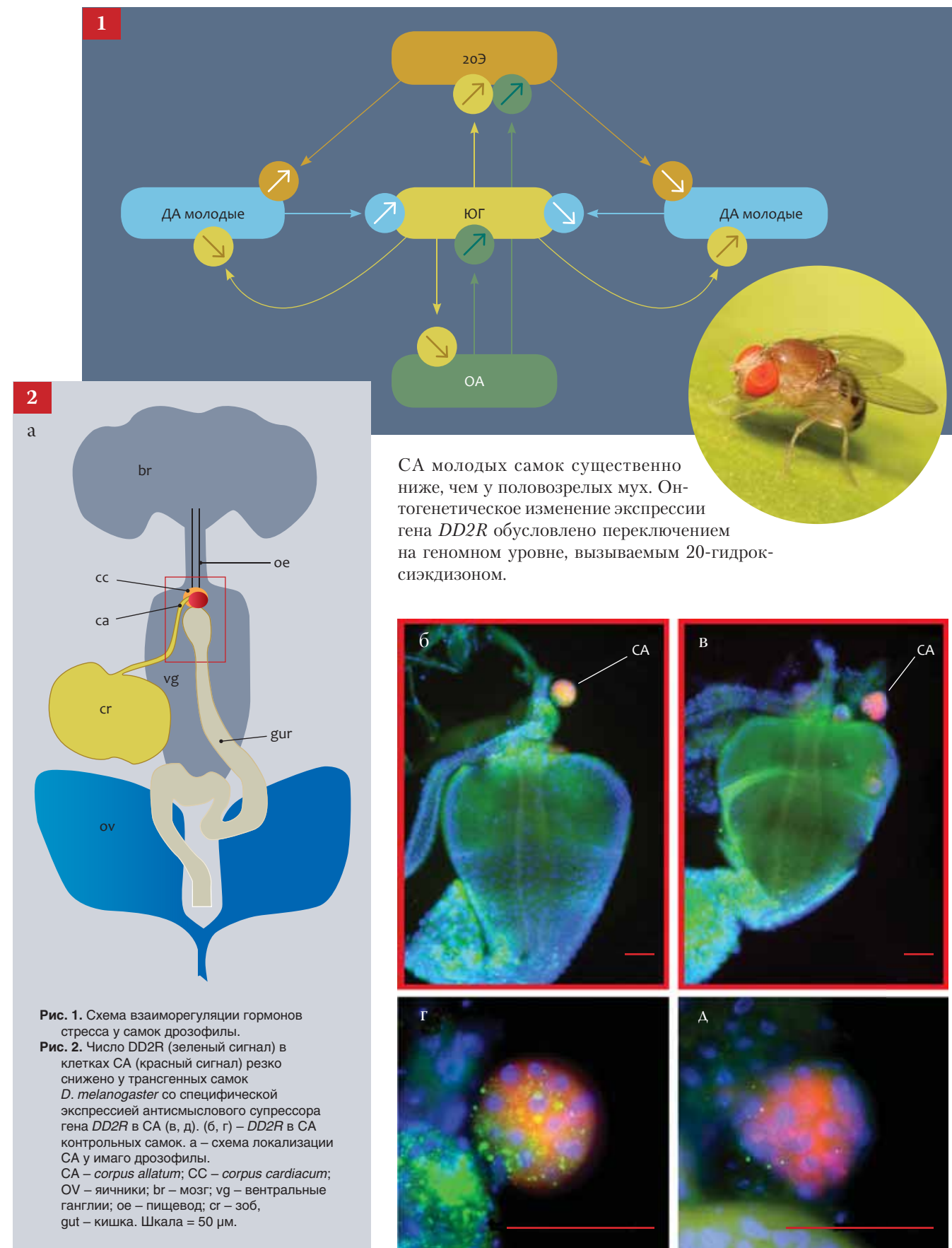
1. Гормоны стресса дрозофилы (гонадотропины, ювенильный гормон (ЮГ) и 20-гидроксиэкдизон (20Э), биогенные амины, дофамин (ДА) и октопамин (ОА)) взаимодействуют между собой, эта взаиморегуляция генетически детерминирована (рис. 1): а) ДА повышает титр ЮГ (ингибируя деградацию и стимулируя синтез гормона) у молодых самок и снижает его (стимулируя деградацию и ингибируя синтез ЮГ) у половозрелых; б) в этой регуляции существует обратная связь – повышение титра ЮГ вызывает снижение уровня ДА в результате активации ДА-зависимой N-ацетилтрансферазы (ДАТ, основного фермента деградации ДА у насекомых) у молодых самок и повышение (ДАТ, фермента, лимитирующего скорость синтеза ДА) у зрелых; в) ОА стадийноспецифическим действием, подобно ДА, не обладает, он повышает титры ЮГ (ингибируя активность ферментов деградации ЮГ) и 20Э (стимулируя активность фермента синтеза, экдизон-20-монооксигеназы (Э20МО)) как у молодых, так и у половозрелых самок; г) 20Э регулирует титр ЮГ опосредованно через систему метаболизма ДА – увеличение титра 20Э повышает уровень ДА у молодых самок (активируя ТГ и ингибируя ДАТ) и снижает его у половозрелых (ингибируя ТГ и активируя ДАТ), тем самым вызывая повышение титра ЮГ у тех и других; д) ЮГ регулирует титр 20Э, изменяя активность Э20МО; е) ДА влияет на уровень 20Э опосредованно через систему метаболизма ЮГ.

2. У самок, но не у самцов, дрозофилы существует механизм стабилизации баланса ЮГ и 20Э, круци-

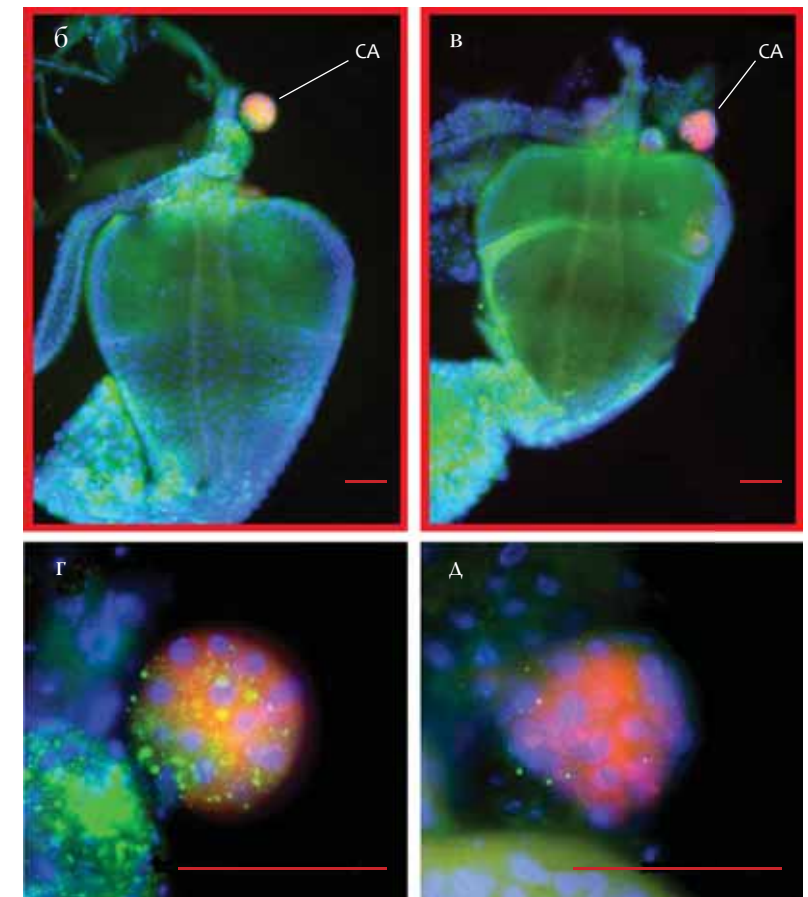
ального для нормального течения оогенеза: при изменении уровня одного из гонадотропинов в результате мутации, действия стрессора или фармакологической обработки баланс восстанавливается за счет соответствующего изменения титра второго. Посредником во взаиморегуляции ЮГ и 20Э является ДА.

3. Ингибирующее влияние ДА на синтез и деградацию ЮГ опосредуется D2-подобными рецепторами: а) у трансгенных самок *D. melanogaster* со сниженной экспрессией гена D2-подобного рецептора дрозофилы (*DD2R*) в железе, синтезирующей ЮГ (*corpus allatum* (CA)) (рис. 2), повышен уровень синтеза ЮГ; б) D2-подобные рецепторы обнаружены в жировом теле (ЖТ) – ткани, синтезирующей ферменты, деградирующие ЮГ; в) активация *DD2R* в ЖТ специфическим агонистом этого рецептора – бромкриптином – вызывает резкое снижение уровня деградации ЮГ и, напротив, снижение доступности *DD2R* при обработке мух антагонистом D2-подобных рецепторов – метаклопрамидом, повышает уровень деградации ЮГ.

4. Онтогенетический характер регуляции титра ЮГ дофамином (повышение уровня ЮГ у молодых самок и снижение у половозрелых) обусловлен изменением экспрессии гена *DD2R* в CA и ЖТ: у молодых самок число *DD2R* в ЖТ на порядок превышает таковое у половозрелых особей, и, напротив, число *DD2R* в



СА молодых самок существенно ниже, чем у половозрелых мух. Онтогенетическое изменение экспрессии гена *DD2R* обусловлено переключением на геномном уровне, вызываемым 20-гидроксиэкдизоном.





лаборатория ГЕНЕТИКИ ПОПУЛЯЦИЙ

Заведующий И.К. Захаров,
д.б.н., профессор
e-mail: zakharov@bionet.nsc.ru

Основные направления научных исследований

- Изучение фундаментальных основ популяционной генетики природных и экспериментальных популяций.
- Изучение динамики генофондов, определение роли отбора и особенностей спонтанного мутационного процесса в формировании генетической изменчивости популяций. Сравнительный анализ генетической изменчивости и спонтанного мутационного процесса в природных популяциях дрозофил.
- Популяционно-генетическое и молекулярно-генетическое изучение серий нестабильных аллелей генов, высокомутабильных хромосом и генов-мутаторов в системе генотипов линий, выделенных из природных популяций *Drosophila melanogaster*.
- Определение характера транспозиций различных мобильных генетических элементов при длительной селекции по количественным признакам и при различных воздействиях.
- Изучение особенностей влияния различных мобильных генетических элементов на экспрессию, рекомбинационный процесс и мутабельность генов.
- Изучение влияния генетических и эпигенетических факторов на мутабельность и экспрессию генов у *Drosophila melanogaster*.
- Исследование распространения внутриклеточной симбиотической бактерии *Wolbachia* в популяциях разных видов. Выявление особенностей взаимодействия симбиотической системы «*Wolbachia*–*Drosophila*».
- Изучение популяционной генетики и распространения синантропных и диких видов семейства Drosophilidae (Diptera) в Палеарктике.

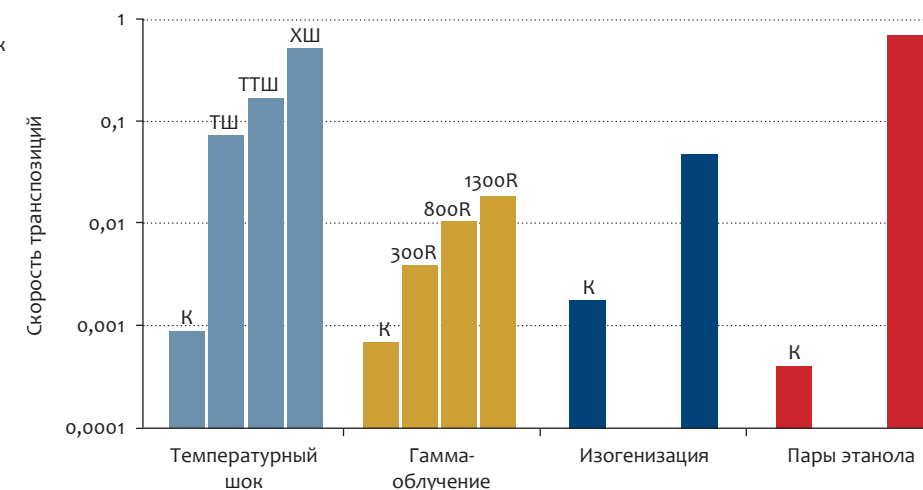
Инсерционный мутагенез и система общей геномной репарации у *Drosophila melanogaster*. Разработана модель изучения у *D. melanogaster* взаимодействий инсерционных нестабильных мутаций с компонентами системы репарации различной специфичности. Схема скрещивания позволяет поместить нестабильный аллель в клеточное окружение ранней зиготы, дефицитное по конкретному ферменту системы репарации. В том случае если репарация инсерци-

онного повреждения была связана с функционированием изучаемого *mis*-гена, наблюдались изменения частоты мутирования нестабильного аллеля. Данные свидетельствуют о том, что механизмы ДНК-репарации вовлечены в процессы локус-специфического инсерционного мутагенеза. Вырезание–встраивание мобильного элемента инициирует каскад репарационных событий, находящихся под контролем генов репарации.

Индукция транспозиций мобильных генетических элементов (МГЭ) различными стрессовыми факторами у *D. melanogaster*. Обнаружена высокая зависимость скоростей индукции транспозиций мобильных генетических элементов (МГЭ) от внешних стрессовых факторов: шоковой температуры, различных доз γ -облучения, различных доз паров этанола и внутренних физиологических факторов – изогенизации и селекции (рис. 1). Скорость индуцированных транспозиций составляла 10^{-1} – 10^{-2} на сайт на геном за поколение против 10^{-3} – 10^{-4} спонтанной скорости транспозиций. В процессе длительной селекции обнаружен сопряженный ответ на отбор по количественным признакам и рисункам сайтов локализации МГЭ. Показано, что в контексте популяционной генетики исследованные стрессовые воздействия наравне с другими способны быстро создавать новую генетическую изменчивость, которая может стать существенной для выживания популяции в новых условиях.

1

ХШ – холодовой шок
ТТШ – тяжелый температурный шок
ТШ – тепловой шок
300 R – доза облучения
К – контроль



Адаптивное действие мутаций опухолевого супрессора *lgl* в модельных исследованиях. Обнаружение повсеместного распространения в удаленных природных популяциях *D. melanogaster* летальных аллелей опухолевого супрессора *lethal (2) giant larvae (lgl)* позволило впервые в одной оригинальной генетической экспериментальной модели соединить генетику популяций, онкогенетику и генетику старения. Установлена зависимость динамики старения гетерозигот *lgl/+* от генетического фона при использовании двух контрольных линий, различающихся по продолжительности жизни самок и самцов и динамике старения. Обнаружены различия в продолжительности жизни в нормальных и стрессовых температурных условиях между гетерозиготами по нулевому делеционному и инсерционному аллелям локуса *lgl*.

Эндосимбионт *Wolbachia* в евразийских популяциях *D. melanogaster*. Эндосимбиотическая α -протеобактерия *Wolbachia* широко распространена среди видов членистоногих и нематод-филяриид и представляет интерес для изучения и понимания эволюции симбиоза и органеллогенеза, микроэволюции и экологической генетики вида-хозяина. Передача бактерии *Wolbachia* происходит вертикально, трансвариальным путем. *Wolbachia* является причиной ряда репродуктивных аномалий вида-хозяина. Показано повсеместное распространение *Wolbachia* в природных популяциях *D. melanogaster* Евразии и установлено генотипическое разнообразие бактерии, оценена степень инфицированности популяций, которая колеблется от 15 до 100 %. Впервые выявлен эффект непрямого отбора митохондриальной наследственности *D. melanogaster*, обусловленный селективным действием *Wolbachia*. Описана изменчи-

вость митохондриального генома для вида в целом и даны временные оценки подразделения двух типов митогрупп *D. melanogaster*. Определен уровень цитоплазматической несовместимости, вызываемой наиболее распространенными генотипами *Wolbachia* – *wMel*, *wMelCS* и *wMelCS2*. Показано преобладание определенных групп бактерий среди чешуекрылых, обитающих как на территории Западной Сибири, так и в популяциях мира.

- Созданы различные модели *D. melanogaster* для изучения взаимодействия генов и геномов, мобильных генетических элементов.
- Путем длительной селекции созданы линии, позволяющие изучать эффекты отбора и факторов среды.
- Освоены генетические тест-системы оценки мутагенности (генотоксичности) и радиопротекторных свойств химических соединений и физических факторов на модельном объекте *D. melanogaster*.
- Создан и поддерживается фонд нормальных и мутантных линий *D. melanogaster* (рис. 2) и других видов рода *Drosophila*.

2



Рис. 1. Индукция транспозиций МГЭ 412 различными внешними и внутренними стрессовыми воздействиями.

Рис. 2. Мутация *Bithorax*. Аллель выделен из природной популяции Каракол-2005 *Drosophila melanogaster*.



Заведующий А.В. Осадчук,
к.б.н., доцент
e-mail: osadchuk@bionet.nsc.ru

лаборатория ЭНДОКРИНОЛОГИЧЕСКОЙ ГЕНЕТИКИ

Основные направления научных исследований

- Генетические и онтогенетические аспекты социального доминирования и тестикулярной функции у лабораторных мышей.
- Биоразнообразие репродуктивного потенциала мужского населения Российской Федерации: эффекты этнических, региональных и экологических факторов.
- Генетическая диссекция сложных количественных признаков в комбинированных экспериментальных дизайнах.

На основе оригинальной модели социального доминирования с минимальным социумом, состоящим из двух самцов, и диаллельных скрещиваний 7 инбредных линий мышей впервые установлены аддитивные эффекты отцовского генотипа на уровень социального доминирования (рис. 1). Также впервые продемонстрированы координированные с социальным доминированием отцовские генетические эффекты по гормональным и морфометрическим показателям тестикулярной функции. Наличие координированных аддитивных генетических эффектов по этим важным интегративным признакам свидетельствует в пользу их общей генетической детерминации на основе плейотропного действия генов и демонстрирует важную роль эндокринной функции семенников в формировании наследственных различий по уровню социального доминирования. Анализ генетико-онтогенетических аспектов выявил существенное взаимодействие генотипа, социального статуса и стадии репродуктивного созревания в поведенческих и тестикулярных ответах на социальную иерархию. Разработанный подход является эффективным инструментом для анализа генетико-эндокринных и репродуктивных механизмов социального доминирования.

Исследование роли региональных и этнических факторов в изменчивости потенциальной мужской фертильности и ее гормонального контроля у жителей урбанизированных районов Российского Севера и Сибири показало существенную вариабельность и высокую частоту субоптимального качества спермы

(рис. 2). Доля мужчин, удовлетворяющих нормативам ВОЗ по концентрации и подвижности сперматозоидов в эякуляте, оказалась самой высокой в Архангельске и наименьшей в Якутске, в то время как частота встречаемости олигоспермии была наименьшей в Архангельске и самой высокой в Якутске. Изученные фенотипические маркеры репродуктивного потенциала популяции указывают на северо-восточное градуальное снижение потенциальной мужской фертильности. На примере жителей г. Улан-Удэ выявлены возрастные особенности этнических различий в показателях спермограммы и профиле репродуктивных гормонов. У мужчин, проживающих в изученных регионах РФ, концентрация и доля подвижных сперматозоидов находятся на нижней границе значений, установленных для жителей Европы и США. Загрязнение окружающей среды, образ жизни, стереотип питания, вредные привычки, социальное ограничение рождаемости и этнические особенности могут быть причиной установленной региональной изменчивости потенциальной мужской фертильности. Оценка мужской фертильности в различных российских регионах и прогноз ее изменений имеют существенное значение для решения демографических проблем нашей страны.

Впервые разработаны мощный комбинированный экспериментальный дизайн, включающий расширенные диаллельные скрещивания рекомбинантных линий, а также F₂ поколение от скрещивания их

линий-основателей, и батарея эффективных статистических тестов для мультилокусной диссекции сложных количественных признаков, контролируемых системой эпистатически взаимодействующих между собой локусов (генов). Решены все главные проблемы генетического анализа сложных признаков: 1) проблема размерности – построение адекватной сегрегационной модели с минимальным числом локусов, описывающей экспериментальные данные с точностью до средовых шумов, и поиск всех вариантов ее решений; 2) сцепления модельных локусов с генетической картой микросателлитов высокой плотности; 3) построения интегративного критерия отношения правдоподобия для одновременного описания обеих систем скрещиваний и проведения на его основе перестановочного теста для выявления статистически значимых решений. Эффективность подхода продемонстрирована в расширенных диаллельных скрещиваниях панели 13 рекомбинантных линий мышей, выведенных от двух линий-основателей BALB/cByJ и C57BL/6ByJ, и их F₂ поколений. Установлена исключительная селективность разработанного подхода, позволяющая экстрагировать единственное решение из приблизительно 10¹⁵ степени потенциальных вариантов с 5 %-м уровнем значимости (рис. 3).

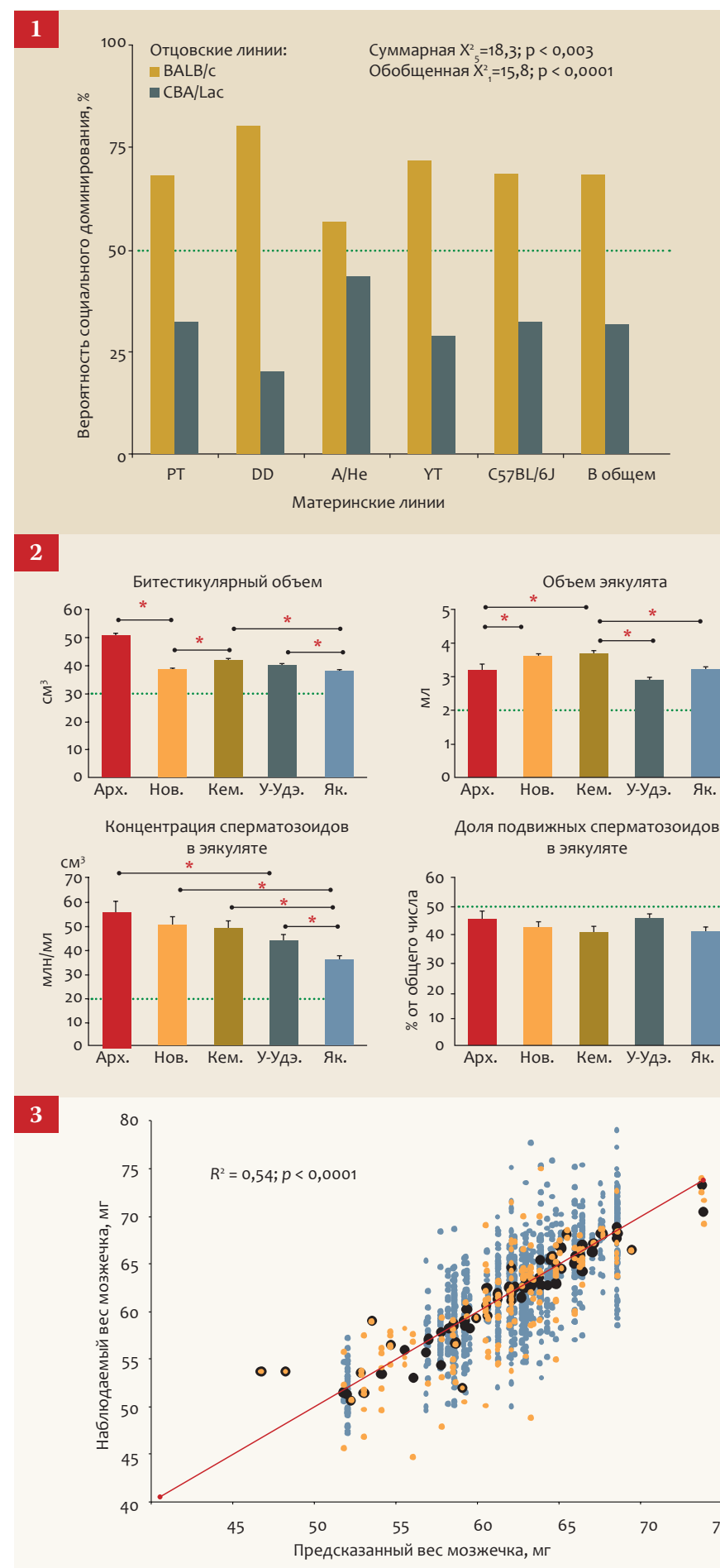


Рис. 1. Характер наследования уровня социального доминирования у взрослых самцов лабораторных мышей в диаллельных скрещиваниях 7 инбредных линий.

Рис. 2. Показатели потенциальной мужской фертильности. Архангельск (Арх), Новосибирск (Нов), Кемерово (Кем), Улан-Удэ (У-Удэ), Якутск (Як). * Достоверные различия между регионами. Горизонтальная чертой обозначены референтные значения ВОЗ (2001).

Рис. 3. Результаты множественного регрессионного анализа решения-чемпиона, основанного на 4-локусной сегрегационной модели, включающей 32 генетических эффекта. Голубые кружки – значения признака у животных расширенных диаллельных скрещиваний, желтые – у животных F₂ линий-основателей. Черные кружки – генотипические значения признаков у 73 генотипов, представленных в двух комплементарных базах данных. Маленькие красные кружки – минимальное и максимальное генотипические значения по 81 генотипу 4-локусной модели. Красная прямая линия – линия регрессии. R² – коэффициент множественной линейной детерминации.



Заведующая Н.К. Попова,
д.м.н., профессор
e-mail: nropova@bionet.nsc.ru

лаборатория НЕЙРОГЕНОМИКИ ПОВЕДЕНИЯ

Основные направления научных исследований

- Генетический контроль поведения и роль в нем медиаторов и модуляторов мозга.
- Выявление влияющих на поведение функциональных мутаций в серотониновой и цитокиновой системах и создание соответствующих линий мышей.
- Исследование экспрессии и функциональной активности ключевых элементов серотониновой системы мозга – фермента биосинтеза триптофангидроксилазы-2 (ТПГ-2), серотониновых рецепторов и транспортера серотонина при нормальном и патологическом поведении.

В лаборатории исследуются такие виды нормального и патологического поведения, как тревожность, депрессия, агрессивное поведение и катаlepsия. Созданы три новые, перспективные для изучения генетико-молекулярных механизмов поведения в норме и при патологии линии мышей:

1. Инбредная линия ASC (Antidepressant Sensitive Catalepsy), которая служит генетической моделью изучения молекулярных механизмов депрессии.
2. Конгенная линия AKR.CBA-D13Mit76, несущая фрагмент 61–70 сМ хромосомы 13 от CBA в геноме AKR. Служит моделью изучения молекулярно-генетических механизмов катаlepsии. Мыши конгенной линии AKR.CBA-D13Mit76, получившие CBA-аллель гена интерлейкина-6, более чувствительны к липополисахариду, чем линия AKR.
3. Конгенная линия B6-1473G, несущая аллель 1473G гена ТПГ-2 в геноме C57BL/6, – модель для выявления роли серотониновой системы мозга в

регуляции нормального и патологического поведения.

Установлено, что точечная мутация в гене ТПГ-2, приводящая к замене С аллеля на G в гене ТПГ-2 и соответственно к замене пролина на аргинин в молекуле ключевого фермента биосинтеза серотонина ТПГ-2, снижает его активность в мозге и понижает агрессивность у мышей (рис. 1).

Показано участие интерлейкина-6 (ИЛ-6) в механизмах катаlepsии (рис. 2).

Создана новая линия мышей ASC (Antidepressant Sensitive Catalepsy) с высокой предрасположенностью к катаlepsии и депрессивному поведению (рис. 3, а).

Установлено, что у мышей линии ASC резко увеличена предрасположенность к катаlepsии (80 % мышей в линии – каталептики). Мыши линии ASC проявляют депрессивноподобное поведение, выраженное в снижении специфического иммунитета, двигательной и исследовательской активности и увеличении времени неподвижности в тесте принудительного плавания (тест «отчаяния» Порсолта) (рис. 3, б). Мыши ASC чувствительны к хроническому действию антидепрессантов, что характерно для пациентов, страдающих депрессией.

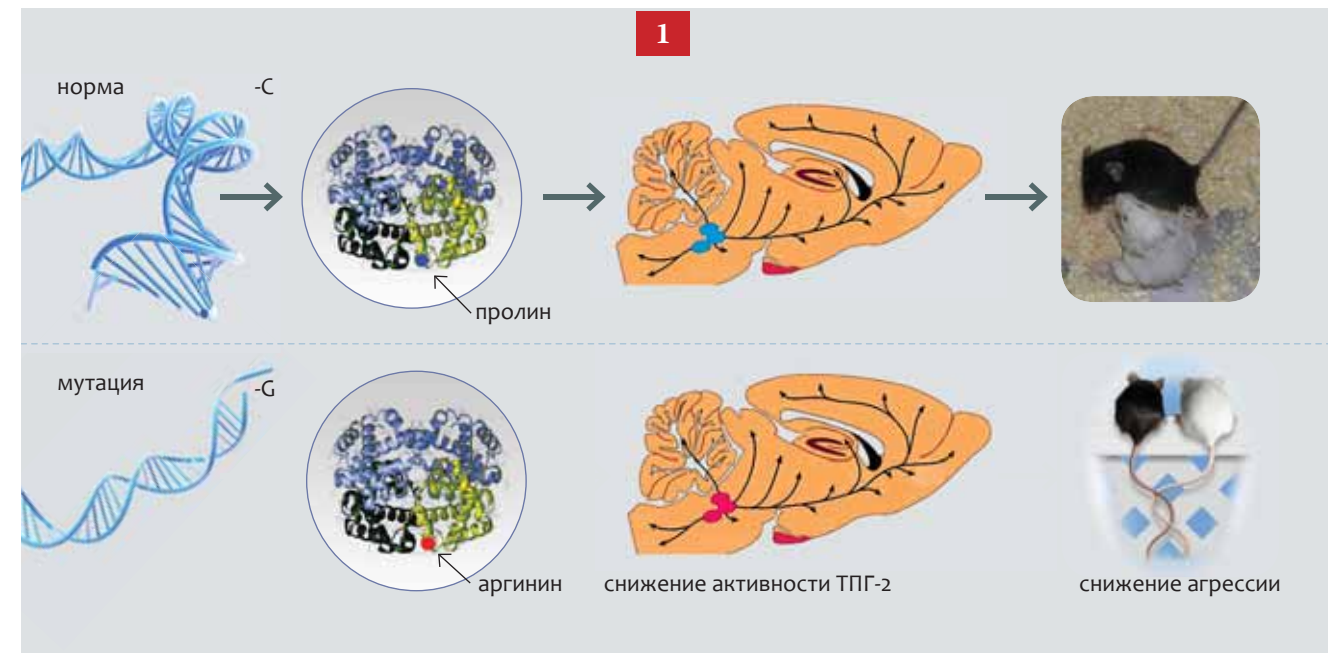
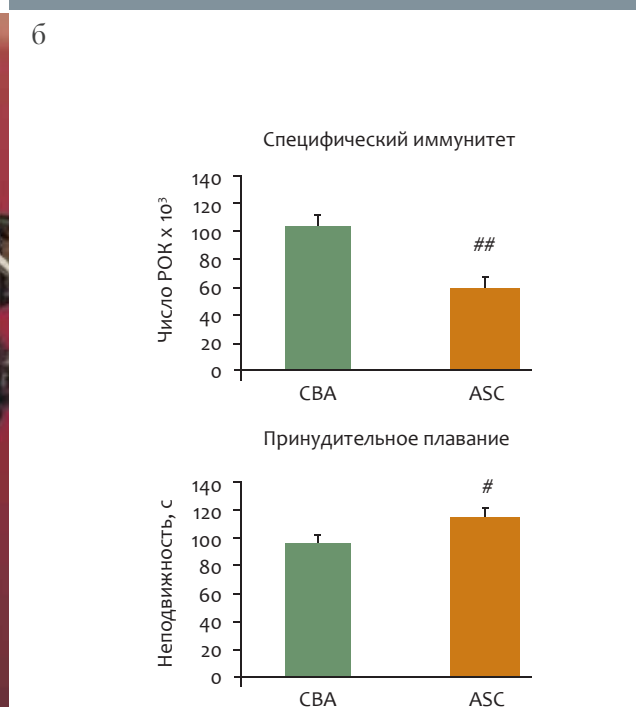
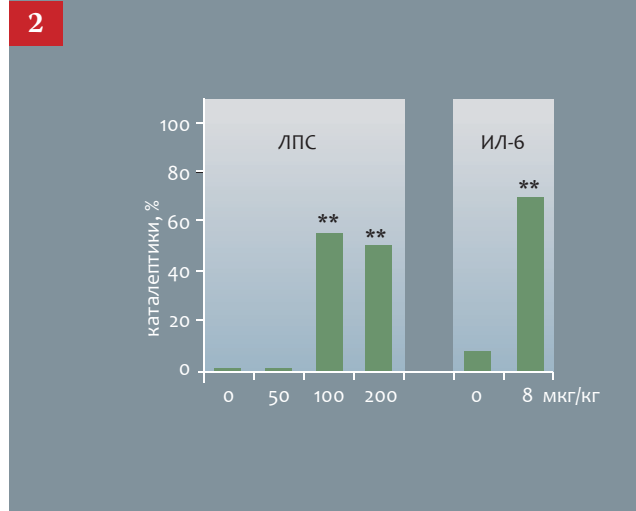


Рис. 1. Влияние точечной мутации на активность фермента ТПГ-2 и агрессивное поведение мышей.

Рис. 2. Введение ИЛ-6 или увеличение его уровня введением липополисахарида (ЛПС) вызывает катаlepsию у некаталептических мышей линии C57BL.

Рис. 3. а – мыши каталептической линии ASC, длительно сохраняющие неестественную для мышей позу; б – снижение иммунитета и усиление депрессивноподобного поведения у мышей линии ASC по сравнению с родительской линией CBA.





лаборатория ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ ГЕНЕТИКИ

Заведующая Л.Н. Иванова,
д.м.н., профессор, академик РАН
e-mail: ludiv@bionet.nsc.ru

Основные направления научных исследований

- Молекулярно-генетические механизмы гормональной регуляции функциональных систем в онтогенезе млекопитающих.
- Исследование молекулярно-генетических механизмов действия вазопрессина и альдостерона на осморегулирующую функцию почек.
- Влияние экспрессии гена вазопрессина на рост карциномы Walker 256 у крыс.
- Исследование молекулярных механизмов коррекции генетически обусловленного ожирения у мышей средовыми факторами.

С использованием разработанного в лаборатории метода компьютерной морфометрии на изолированных фрагментах собирательных трубок впервые обнаружено, что вазопрессин стимулирует увеличение осмотической проницаемости как апикальной, так и базолатеральной мембраны главных клеток (рис. 1). Установлено, что в реализации этого эффекта участвуют V_2 рецепторы и аденилатциклазная система трансдукции гормонального сигнала, а также Са-зависимые внутриклеточные посредники и протеинкиназа С. При дегидратации выявлено, что длительный эффект вазопрессина обусловлен повышением экспрессии генов аквапоринов 2-, 3- и 4-го типов в мозговом веществе почки. Обнаружено, что в процессе постнатального становления реакции почек крыс и мышей на вазопрессин нарастает экспрессия генов V_2 рецепторов, повышаются ГТФазная активность G белков и их сопряжение с рецептором вазопрессина, увеличивается содержание мРНК и белка AQP2. С использованием флуоресцентного красителя Calcein-AM впервые показано влияние физиологических концентраций альдостерона (10 нМ) на амплитуду изменений и кинетику восстановления объема главных клеток в условиях быстрой смены осмоляльности омывающего раствора с 380 до 140 мосм/кг H_2O («гипотонический шок»). Характер изменений объема главных клеток эпителия незрелой почки 10-дневных животных существенно не отличается от такового у взрослых, однако стабилизация объема наступает в десятки раз медленнее, чем у взрослых, что, вероятно, обусловлено меньшей функциональной

активностью ENaC и Na-K-ATФазы в этих клетках. На основе полученных экспериментальных данных создана математическая модель реакции главных клеток собирательных трубок почки на гипотонический шок.

Исследована динамика роста солидной опухоли Walker 256 у крыс с различной дозой мутантного гена вазопрессина. В лаборатории впервые обнаружено, что на фоне дефицита вазопрессина у крыс линии *Brattleboro* наблюдается регрессия солидных опухолей, формирующихся после инокуляции клеток карциномы Walker 256 (рис. 2). Эта генетическая модель представляется перспективной для изучения роли вазопрессина в канцерогенезе и выявления эндогенных факторов, тормозящих канцерогенез.

У мышей мутация *yellow* в локусе Агути (A^y/a -мыши) снижает активность меланокортиновых (МК) рецепторов гипоталамуса, повышает аппетит, вызывает ожирение и диабет 2-го типа: гиперинсулинемию и гипергликемию. Установлено, что слабый хронический эмоциональный стресс не влияет на углеводно-жировой обмен у мышей с нормальной активностью МК системы, но снижает вес тела, потребление пищи, уровни в крови инсулина и глюкозы у A^y/a мышей, т. е. оказывает антидиабетическое действие. В модели острого эмоционального стресса снижение аппетита у стрессированных A^y/a мышей не было связано с реакцией на стресс со стороны гипоталамо-надпочечниковой системы, но могло быть обусловлено повышенной экспрессией гена рецептора корти-

котропин-рилизинг фактора 2-го типа (КРФР2) в гипоталамусе, поскольку активация этого рецептора снижает потребление пищи (рис. 3).

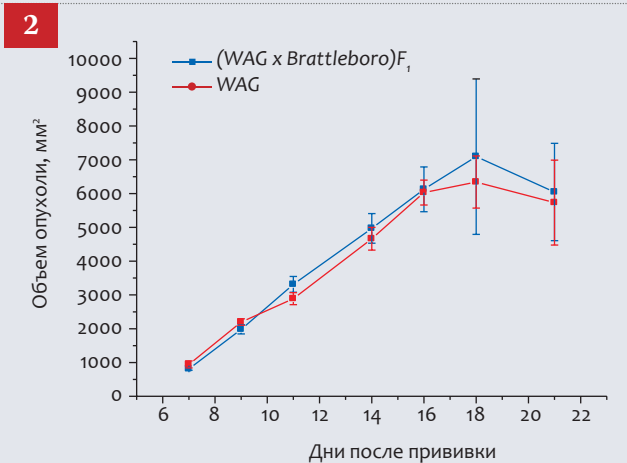
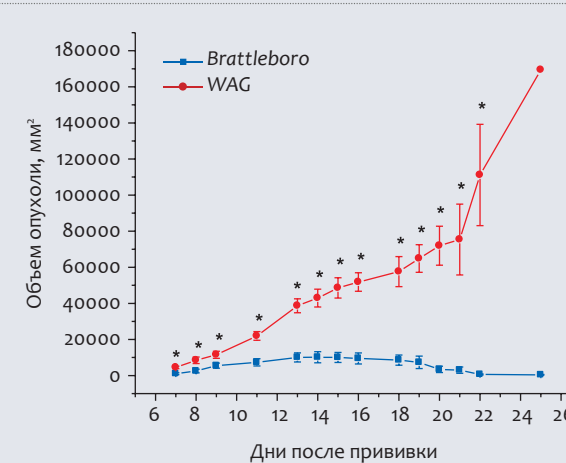
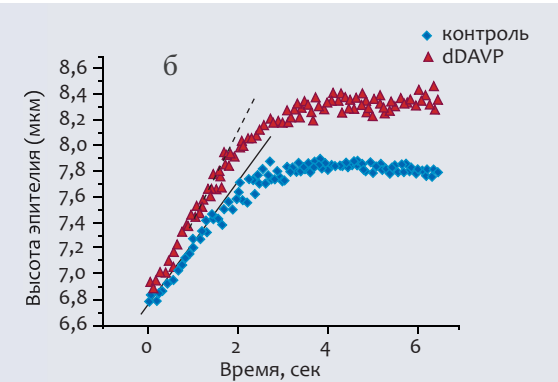
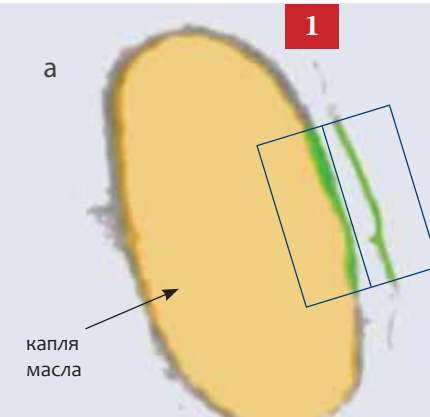
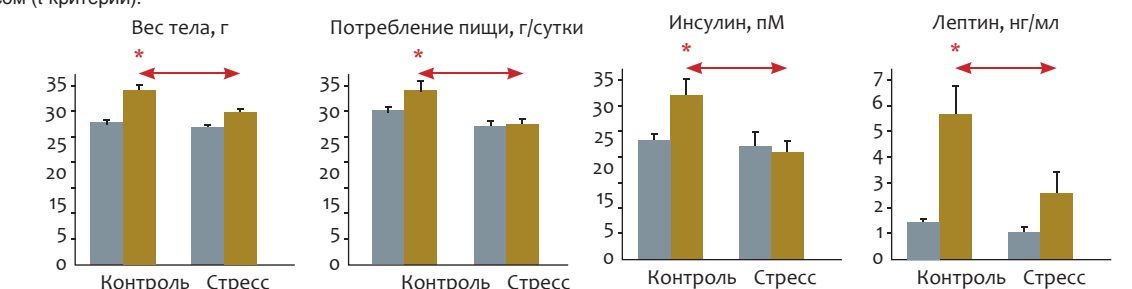
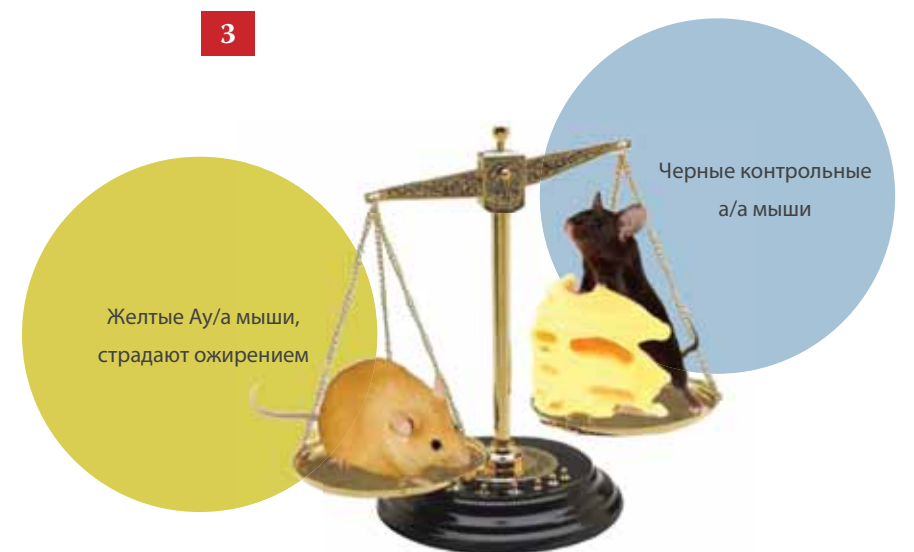


Рис. 1. Измерение водной проницаемости базолатеральной мембраны клеток собирательных трубок методом компьютерной морфометрии. а – изолированная собирательная трубка с введенной в просвет каплей масла для блокады апикальной мембраны клеток. Зеленым цветом обозначены автоматически определяемые границы эпителия; б – типичные кривые изменения высоты клеток эпителия при быстром снижении осмоляльности среды в контроле и при действии синтетического аналога вазопрессина (dDAVP).

Рис. 2. Динамика роста солидной опухоли у крыс после инъекции клеток Walker 256. * Достоверность различий между экспериментальными группами $p < 0,001$.

Рис. 3. Вес тела, потребление пищи, уровни лептина и инсулина в крови у мышей с генетически запрограммированным ожирением (желтые, Ay/a) и у контрольных мышей (черные, a/a) до и после 5 недель повторяющегося эмоционального стресса. * $p < 0,05$ – сравнение Ay/a с a/a (t-критерий), линия – $p < 0,05$ – сравнение контроля со стрессом (t-критерий).





Заведующий Н.Н. Дыгало,
д.б.н., профессор
e-mail: dygalo@bionet.nsc.ru

лаборатория ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ НЕЙРОГЕНОМИКИ

Основные направления научных исследований

- Выявление молекулярно-генетических механизмов формирования психонейроэндокринного фенотипа индивида.
- Исследуются два тесно связанных аспекта действия гена, потенциально способного влиять на психонейроэндокринный фенотип:
 - исполнительно-регуляторная функция: участие продукта(ов) гена в процессах, определяющих текущее состояние индивида;
 - программирующая функция: участие продукта(ов) гена в критические сроки развития в определении последующих свойств особи.

Более трети всех генов млекопитающих вовлечены в процессы, обеспечивающие нормальное развитие и функционирование мозга. В этом множестве генов основное внимание лаборатории направлено на гены, непосредственно участвующие в трансдукции межнейрональных сигналов, и гены, обеспечивающие нейропластические события в мозге как в раннем онтогенезе, так и в условиях развития психоэмоциональной патологии или в ответ на терапевтические воздействия. Исследуются рецепторы нейротрансмиттеров, ферменты их синтеза, транспортеры, нейрогормоны, белки апоптоза, нейротрофические факторы.

Функции генов изучаются у взрослых животных и в раннем онтогенезе путем изменения их экспрессии гормонами, средствами традиционной фармакологии (лигандами рецепторов и транспортеров), а также стрессорными воздействиями. В наших исследованиях применяются также подходы «обратной генетики»: посттранскрипционный генсайленсинг с помощью антисенс-технологии и РНК-интерференции.

Обнаружено влияние антидепрессанта флуоксетина на экспрессию генов серотонинергической системы головного мозга. Изменение экспрессии гена ключевого нейронального фермента синтеза индоламина – триптофангидроксилазы-2 – оказалось сопряженным с терапевтическим действием препарата.

Впервые выявлена тесная ассоциация экспрессии антиапоптозного белка Bcl-xL в гиппокампе и стволовой части головного мозга с индивидуальной

устойчивостью к индукции стрессом депрессивноподобного состояния (рис. 1). Повышение экспрессии этого гена так же, как и гена мозгового нейротрофического фактора (BDNF), обнаружено в гиппокампе, ключевой стресс-реактивной структуре головного мозга, в первые часы после психоэмоционального воздействия (рис. 2).

Впервые установлена возможность сиквент-специфического подавления экспрессии гена-мишени в головном мозге млекопитающих короткой синтетической интерферирующей РНК *in vivo*, что открыло новые подходы к исследованию функции генов в центральной нервной системе. С помощью этого подхода обнаружено включение гипоталамического нейрогормона гонадолиберина (GnRH-1) в регуляцию гонадотропной функции гипофиза, уровня тестостерона в крови и роста мужских половых желез не ранее конца второй недели жизни крысят (рис. 3). Путем подавления экспрессии гена альфа2А-адренорецепторов в головном мозге установлено его участие в формировании нормальных и патологических форм поведения. Снижение экспрессии этого гена в мозге взрослых животных активировало мужское половое поведение и ослабляло тревожность, чрезмерный уровень которой характерен для различных проявлений психопатологии человека. Впервые обнаружено «программирование» нейрогеном в критический период развития мозга последующих психофизиологических свойств индивида. Кратковременное подавление экспрессии альфа2А-адренорецепторов

в мозге новорожденных приводило к формированию аномально низкой тревожности и проявлению в последующие периоды жизни симптомов, наблюдаемых у людей при шизофрении. Механизм «программирования» включает апоптоз и нейрохимические изменения в формирующемся мозге.

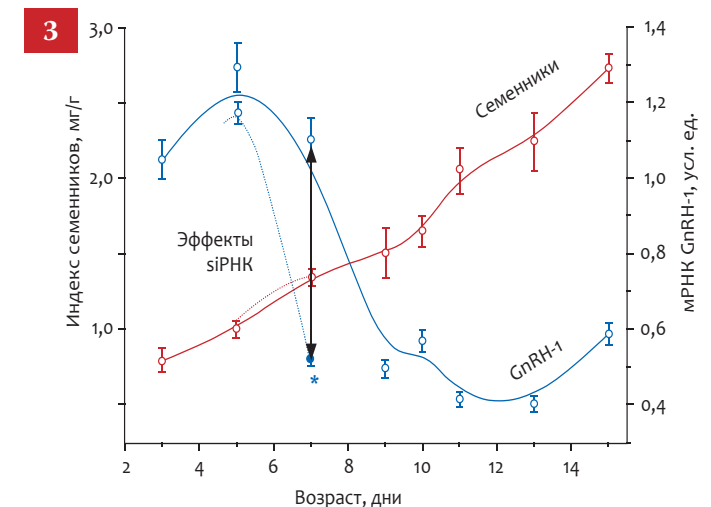
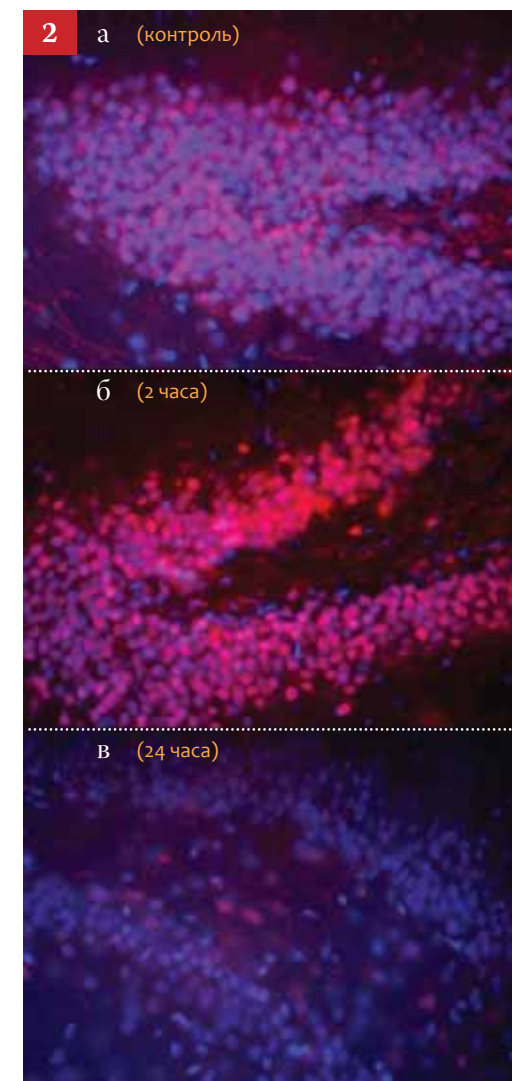
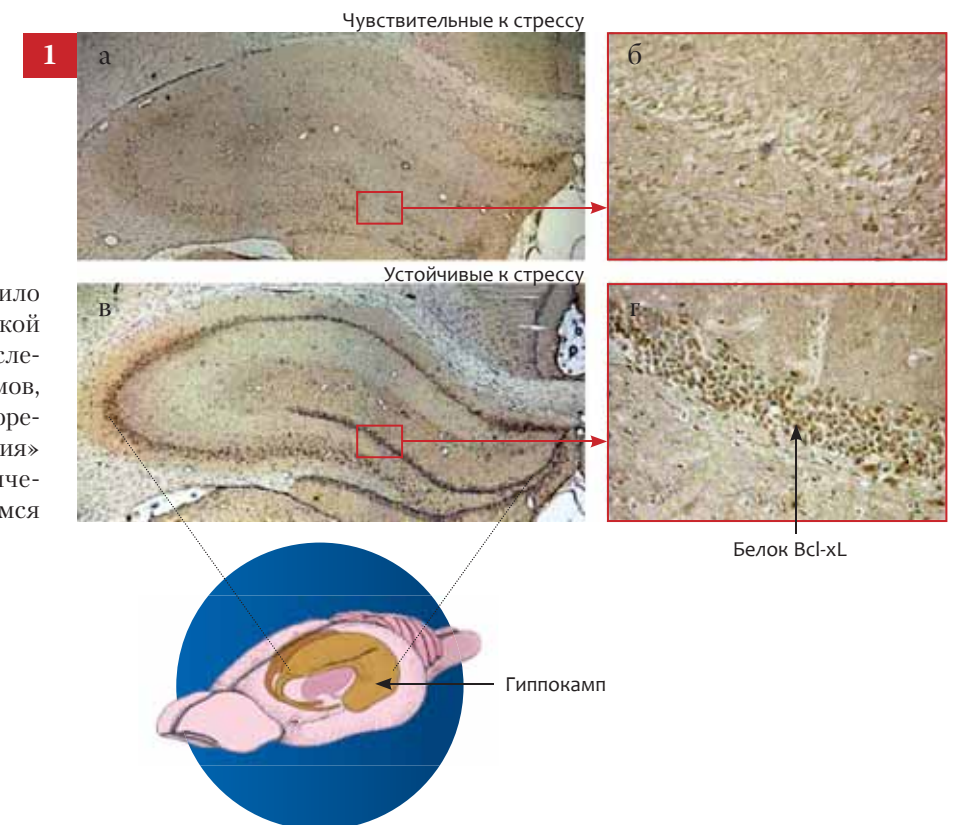


Рис. 1. Повышение экспрессии белка Bcl-xL в гиппокампе (коричневое окрашивание) при стрессе ассоциировано с индивидуальной устойчивостью к формированию индуцируемого стрессом депрессивноподобного состояния.

Рис. 2. Повышение экспрессии мозгового нейротрофического фактора (BDNF, красная флуоресценция, синие – ядра клеток) в гиппокампе через 2 часа (б) после психоэмоционального стрессового воздействия. Через 24 часа наблюдается резкое снижение экспрессии этого нейротрофина (в) по сравнению с особями, не подвергавшимися действию стресса (а).

Рис. 3. Рост мужских половых желез в первые дни жизни крысят (красная линия) не зависит от экспрессии нейрогормона гонадолиберина (GnRH-1) в гипоталамусе (синяя линия). Это установлено как по онтогенетической динамике этих показателей (сплошные линии), так и по сохранению темпов роста гонад (красная пунктирная линия) после подавления экспрессии GnRH-1 в 2,5 раза по сравнению с одновозрастным контролем короткой интерферирующей РНК (siРНК, синяя пунктирная линия и стрелка).



Заведующая Н.Н. Кудрявцева,
д.б.н., с.н.с.
e-mail: natnik@bionet.nsc.ru

сектор НЕЙРОГЕНЕТИКИ СОЦИАЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ

Основные направления научных исследований

- Моделирование, исследование и поиски путей фармакологической коррекции психоэмоциональных расстройств (депрессия, генерализованная тревога, патологическая агрессия, психогенный иммунодефицит) в динамике развития от нормы до глубокой патологии включая:
 - психопатологию повторного опыта агрессии с акцентом на изучение постдепривационных последствий и ее молекулярных механизмов;
 - ангедонический компонент развития тревожно-депрессивного состояния в зависимости от экспериментального контекста;
 - взаимосвязь хронической тревоги, иммунодефицита, метастазирования, клеточного цикла и путей их фармакологической коррекции у тревожно-депрессивных животных.

Впервые было показано, что повторный опыт агрессии в ежедневных внутривидовых взаимодействиях ведет к развитию патологии поведения у самцов мышей, которая сопровождается развитием повышенной импульсивности и агрессивности, выраженной тревогой, гиперактивностью, нарушением социального распознавания и гедонического поведения, появлением стереотипий и т. д. Было показано, что период депривации от социальных контактов (14 дней), в течение которой самцы не имели возможности демонстрировать агрессию, усиливает агрессивность большинства самцов с повторным опытом агрессии (рис. 1). Предоставление раствора сахарозы в условиях свободного выбора или проживание с самками в течение периода депривации не повлияло существенно на этот процесс.

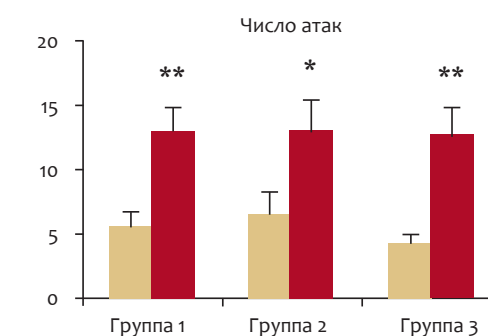
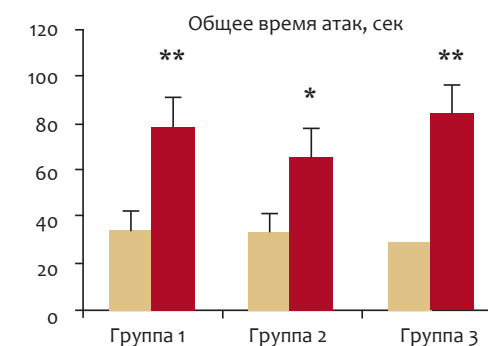
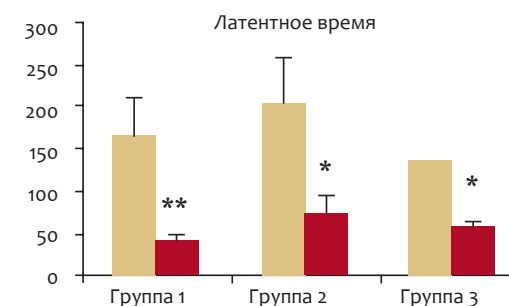
Совместно с сотрудниками Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН впервые было показано, что повторный опыт агрессии изменяет экспрессию генов *Th*, *Dat1* и *Snca*, но не *Bdnf* в вентральной тегментальной области мозга. После периода депривации повышенная экспрессия генов *Th* и *Dat1* сохраняется (рис. 2), в то время как экспрессия гена *Snca* возвращается к норме. Впервые показано, что уровень экспрессии генов достоверно коррелирует с выраженностью агрессии, демонстрируемой самцами мышей.

Завершена разработка экспериментальной модели тревожной депрессии, которая в настоящее время нашла при-

менение в исследованиях зарубежных лабораторий (более 20). Разработана методика оценки нарушений гедонического поведения у тревожно-депрессивных самцов мышей в условиях хронического социального стресса. Показано, что самцы в этих условиях существенно снижают потребление ранее предпочитаемого раствора сахарозы, что свидетельствовало о развитии основного симптома депрессии – ангедонии. Показано влияние экспериментального контекста на потребление сахарозы. Самцы, знакомые со вкусом раствора сахарозы, предпочитали пить его и на фоне социального стресса. Самцы, не знакомые со вкусом сахарозы, выпивали раствора сахарозы существенно меньше, чем контрольные мыши. Следовательно, отсутствие снижения потребления раствора сахарозы на фоне стресса не является признаком отсутствия депрессии. В то же время снижение потребления раствора сахарозы говорит о развитии ангедонии. Была выдвинута гипотеза, что основным фактором, вызывающим развитие ангедонии, является хроническая тревога.

Совместно с сотрудниками Института клинической и экспериментальной лимфологии СО РАН, а также Института физиологии СО РАН было показано, что хронический социальный стресс приводит к выраженному снижению числа клеток в иммунокомпетентных органах и изменяет субпопуляционный состав лимфоцитов с различными фенотипами и нарушает процессы клеточного деления. Диазепам, вводимый на фоне социального стресса и оказывающий анксиолитический эффект, предотвращает развитие клеточной иммунной недостаточности, нарушение клеточного цикла и снижает уровень метастазирования.

1



2

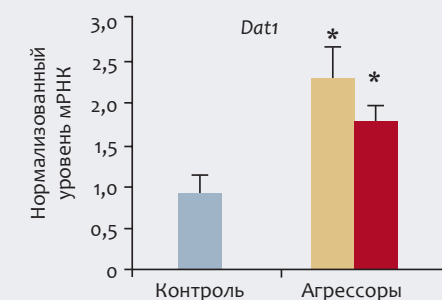
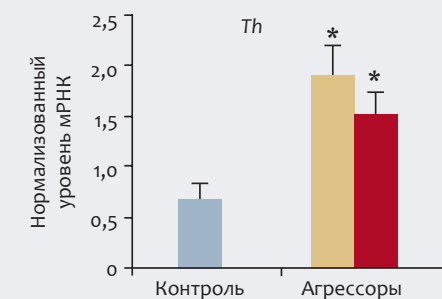


Рис. 1. Усиление агрессии, оцениваемого снижением латентного времени атак и увеличением общего времени и числа атак у агрессивных самцов мышей до (■) и после (■) 14-дневной депривации. Группа 1 – самцы, находившиеся в течение депривации с побежденным самцом в одной клетке, разделенной прозрачной перегородкой и неимевшие агонистических столкновений; группа 2 – самцы, дополнительно получавшие раствор сахарозы в течение периода депривации; группа 3 – самцы, жившие весь период депривации с самками. $p < 0,05$; $p < 0,01$ по сравнению с додепривационным периодом.

Рис. 2. Относительный уровень мРНК генов *Th* и *Dat1* в вентральной тегментальной области у контрольных самцов и самцов с повторным опытом агрессии в течение 20 дней до (■) и после (■) депривации в течение 14 дней. $p < 0,05$ по сравнению с контролем.



Заведующая А.Г. Ромащенко, к.б.н.
e-mail: romasch@bionet.nsc.ru

лаборатория МОЛЕКУЛЯРНЫХ ОСНОВ ГЕНЕТИКИ ЖИВОТНЫХ

Основные направления научных исследований

- Изучение молекулярных механизмов координированного действия генов в формировании признаков в норме и патологии.
- Палеогенетические исследования этапов формирования структуры генофондов современных популяций в северной части Евразии.
- Оценка влияния полиморфизмов генов на возникновение патологических признаков при наследственных заболеваниях и патологиях сложной природы (атеросклероз, диабет, глаукома, инсульт, клещевой энцефалит и т. д.).

Оценено генетическое разнообразие однокопийного гена *HFE* в популяциях России и показана его информативность в качестве биомаркера для реконструкции картины формирования структуры современных популяций в северной части Евразии (рис. 1, 2).

Из палеогенетических исследований следует, что население Горного Алтая в период позднего неолита и начала I тыс. до н. э. было представлено, главным образом, носителями западноевразийских гаплогрупп мтДНК, в основном гаплогруппы H с гетерогенным составом ее вариантов. Проникновение в регион мигрантов с восточноевразийскими гаплогруппами мтДНК началось в I тыс. до н. э. и коррелировало с распространением кочевого животноводства. Показано отсутствие в Барабинской лесостепи в период энеолита (IV тыс. до н. э.) и до конца II тыс. до н. э. носителей гаплогруппы H мтДНК, распространенной среди современного населения региона. Их появление зафиксировано в начале I тыс. до н. э.

Контекстным анализом структуры ДНК в местах локализации полиморфизмов IVS2(+4)t/c, IVS4(-44)t/c, IVS5(-47)a/g гена *HFE* определена их потенциальная функциональная значимость на разных этапах формирования сплайсосомы в ходе процессинга пре-мРНК.

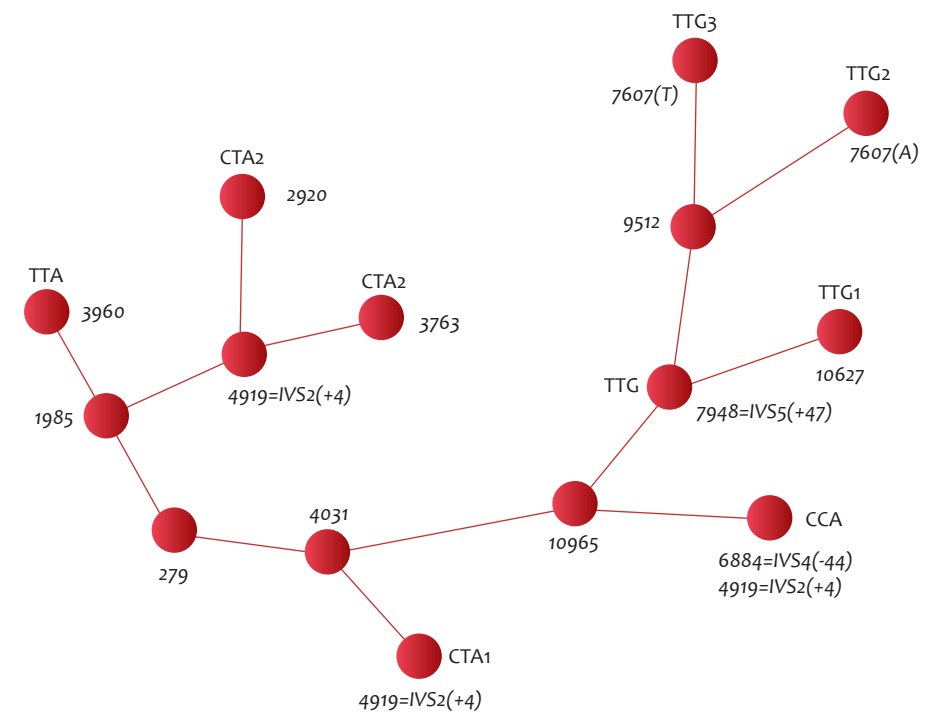
Впервые в России проведена проверка ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП), идентифицированных в недавних зарубежных полногеномных исследованиях, на пригодность в качестве

маркеров риска развития инфаркта миокарда и сахарного диабета второго типа. Воспроизведены результаты полногеномных исследований по ассоциациям ОНП rs619203, rs499818, rs1333049 и rs10757278 с инфарктом миокарда и факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний для популяции русских г. Новосибирска. Для ОНП rs28711149, rs1376251, rs2549513, rs4804611, rs17465637 такие ассоциации не обнаружены. Проведено исследование ассоциации всех вышеперечисленных маркеров с внезапной смертью и впервые получены данные об ассоциации ОНП rs1333049 и rs10757278 с этой патологией. Для сахарного диабета второго типа обнаружены ассоциации ОНП rs7903146 в гене *TF7L2* и rs10811661, в гене *CDKN2A/B*, в то же время не выявлены ассоциации для ОНП rs9939609 в гене *FTO* и rs2237892 в гене *KCNQ1*.

Изучен спектр мутаций гена рецептора липопротеинов низкой плотности в европеоидной популяции России у лиц с гиперхолестеринемией. Выявлены 7 ранее неизвестных мутаций в экзонах 9 и 12. Найдено 12 ранее описанных для других популяций мира мутаций в экзонах 2, 5, 6, 8, 9 и 11. Только одна из этих мутаций ранее была описана в России в клинической выборке пациентов с семейной гиперхолестеринемией. Показано, что в России спектр мутаций гена рецептора липопротеинов низкой плотности в популяционной выборке пациентов с гиперхолестеринемией значительно отличается от спектра мутаций пациентов с семейной гиперхолестеринемией (клинические выборки).

Было изучено распространение 23 ОНП в генах семейства 2'-5'-олиго-

1



2

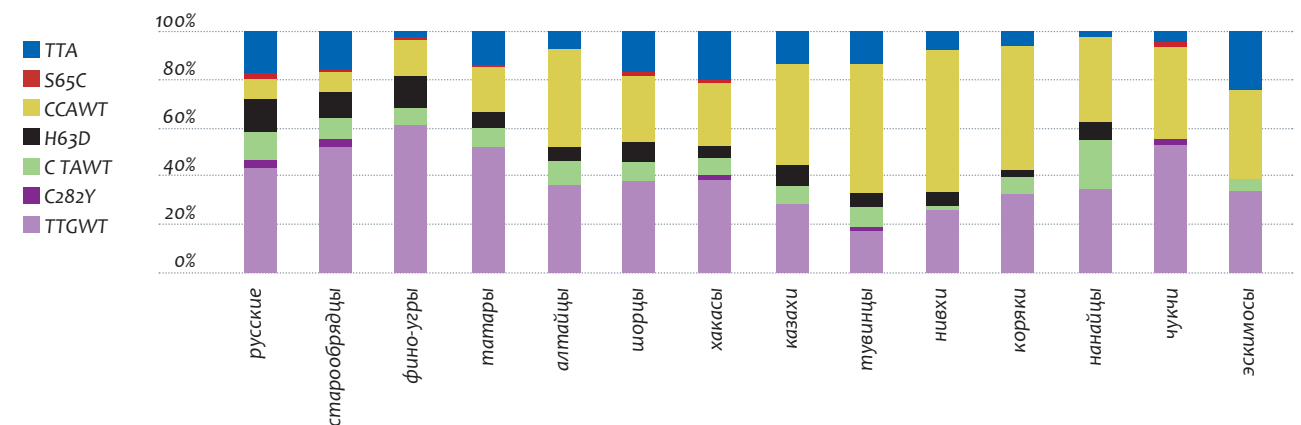


Рис. 1. Генетическое разнообразие гена *HFE* человека, расположенного на хромосоме 6p21.3 в локусе генов главного комплекса гистосовместимости (МНС).

Рис. 2. Распределение вариантов гена *HFE* в популяциях России с интронными гаплогруппами по полиморфизмам: IVS2(+4)t/c, IVS4(-44)t/c и IVS5(-47)g/a, а также с экзонными мутациями C282Y, H63D и S65C.

аденилатсинтетаз (*OAS1*, *OAS2*, *OAS3* и *OASL*) у жителей г. Новосибирска, перенесших клещевой энцефалит, и в популяционном контроле. Была обнаружена ассоциация 5 ОНП генов *OAS2* и *OAS3* с предрасположенностью к тяжелым формам клещевого энцефалита.

Было показано наличие достоверных различий частот аллелей и генотипов по полиморфной замене G на A в позиции 15 от начала первого интрона гена *TNFA* у здоровых коров черно-пестрой породы и инфицированных вирусом лейкоза по данным серологической диагностики. Оказалось, что частоты генотипов и аллелей этого маркера существенно различаются в выборках животных, инфицированных вирусом или находящихся на различных стадиях заболевания лейкозом.



сектор
МОЛЕКУЛЯРНОЙ
ЭПИДЕМИОЛОГИИ
И ЭВОЛЮЦИИ ЧЕЛОВЕКА

Заведующий М.И. Воевода,
член-корр. РАМН, д.м.н., профессор
e-mail: mvoevoda@ya.ru

Основные направления научных исследований

- Изучение молекулярно-генетических механизмов наследственных и распространенных заболеваний человека.
- Изучение особенностей генофонда населения Северной Азии в связи с предрасположенностью к распространенным заболеваниям и адаптации к экстремальным природным условиям.

Совместно с НИИ терапии СО РАМН сформирован крупнейший в России популяционный банк генетических материалов жителей нашей страны на базе международного эпидемиологического проекта HAPIEE, создающий основу для широкомасштабных молекулярно-генетических исследований.

Впервые в России проведена проверка ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП), идентифицированных в недавних зарубежных полногеномных исследованиях, на пригодность в качестве маркеров риска развития инфаркта миокарда, сахарного диабета второго типа и рака молочной железы. Воспроизведены результаты полногеномных исследований по ассоциациям ОНП rs619203, rs499818, rs1333049 и rs10757278 с инфарктом миокарда и факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний для популяции русских г. Новосибирска (рис. 1, 2). Для ОНП rs28711149, rs1376251, rs2549513, rs4804611, rs17465637 такие ассоциации не обнаружены. Проведено исследование ассоциации всех вышеперечисленных маркеров с внезапной смертью и впервые получены данные об ассоциации ОНП rs1333049 и rs10757278 с этой патологией. Для сахарного диабета второго типа обнаружены ассоциации ОНП rs7903146 в гене *TF7L2* и rs10811661 в гене *CDKN2A/B*, не выявлены ассоциации для ОНП rs9939609 в гене *FTO* и rs2237892 в гене *KCNQ1*.

Изучен спектр мутаций гена рецептора липопротеинов низкой плотности в европеоидной популяции России у лиц с гиперхолестеринемией. Выявлены 7 ранее неизвестных мутаций в экзонах 9 и 12. Найдено 12 ранее описанных для других популяций мира мутаций в экзонах 2, 5, 6, 8, 9, и 11. Только одна из этих мутаций ранее была описана в России в клинической выборке пациентов с семейной гиперхолестеринемией. Показано, что в России спектр мутаций гена рецептора липопротеинов низкой плотности в популяционной выборке пациентов с гиперхолестеринемией значительно отличается от спектра мутаций пациентов с семейной гиперхолестеринемией (клинические выборки).

Впервые показана ассоциация полиморфизма гена холодового рецептора *TRPM8* с рядом заболеваний человека и их факторами риска. Впервые продемонстрирована его ассоциация с показателями, характеризующими термочувствительность.

Изучена вариабельность структуры генов семейства 2'-5'-олигоаденилатсинтетаз (*OAS1*, *OAS2*, *OAS3* и *OASL*) по 23 ОНП у жителей г. Новосибирска, перенесших клещевой энцефалит, и в популяционном контроле. Была обнаружена ассоциация 5 ОНП генов *OAS2* и *OAS3* с предрасположенностью к тяжелым формам клещевого энцефалита.



Рис. 1. Проверка значимости мировых результатов полногеномных исследований ассоциаций для российской популяции (полиморфные маркеры, значимо ассоциированные с инфарктом миокарда).
Рис. 2. Ассоциация полиморфизма rs1219648 гена *FGFR2* с раком молочной железы в Западной Сибири (пример гена, идентифицированного в результате полногеномного анализа).



межинститутский сектор
ПАЛЕОГЕНЕТИКИ
(ИЦиГ СО РАН – ИАЭТ СО РАН)

Заведующая А.Г. Ромащенко, к.б.н.
e-mail: romasch@bionet.nsc.ru

Основные направления научных исследований

- Изучение структуры генофондов древнего населения Сибири и сопредельных регионов Евразии методами палеогенетики.
- Реконструкция этапов этногенеза на территории Сибири на протяжении последних десяти тысячелетий.
- Исследование корреляции древних генетических и этнокультурных процессов в регионе.

Совместно с сотрудниками Института археологии и этнографии СО РАН (координатор программ – академик В.И. Молодин) сформированы репрезентативные коллекции палеоантропологических образцов от представителей древнего населения Сибири различной этнокультурной и хронологической принадлежности – с эпохи неолита (VI–V тыс. до н. э.) до позднего средневековья (XVI–XVII в. н. э.).

Проведено исследование разнообразия линий митохондриальной ДНК (мтДНК) в генофондах населения лесостепной полосы Западной Сибири (Барабинская лесостепь и прилегающие территории) эпохи неолита и различных периодов эпохи бронзы (VI – начало I тыс. до н. э.) (рис.). Высокая репрезентативность изученного материала (~ 200 образцов мтДНК) позволила реконструировать динамику состава генофонда мтДНК населения региона на протяжении пяти тысячелетий. Определены компоненты генофонда, свойственные наиболее ранним группам населения и маркирующие генетическую преемственность contemporaneous групп (варианты гаплогрупп A, C, Z, U5a). Реконструирована последовательность

появления в генофонде новых для региона гаплогрупп мтДНК (гаплогруппы T, H).

Комплексный междисциплинарный характер исследований (тесная интеграция палеогенетических, археологических и антропологических исследований) позволил связать изменения состава генофонда мтДНК исследованных групп с предполагаемыми демографическими и этнокультурными процессами, протекавшими в Западной Сибири в обозначенный период. Установлено, что в периоды неолита и ранней бронзы (VI–III тыс. до н. э.) доминировала преемственность в структуре генофонда мтДНК между contemporaneous этнокультурными группами. Значительные изменения состава линий мтДНК в генофондах произошли в результате крупных миграционных потоков в регион в периоды развитой (II тыс. до н. э.) и финальной бронзы (начало I тыс. до н. э.).

Таким образом, впервые методами палеогенетики на репрезентативном материале реконструированы генетические аспекты формирования древнего населения обширного региона (западносибирской лесостепи) на протяжении длительного периода времени (около пяти тысячелетий).

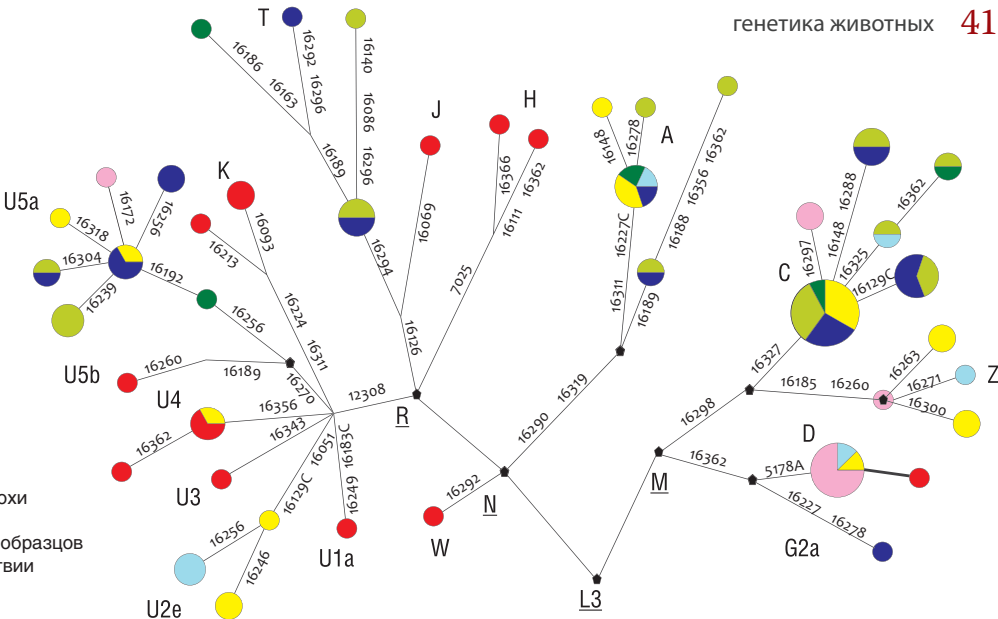
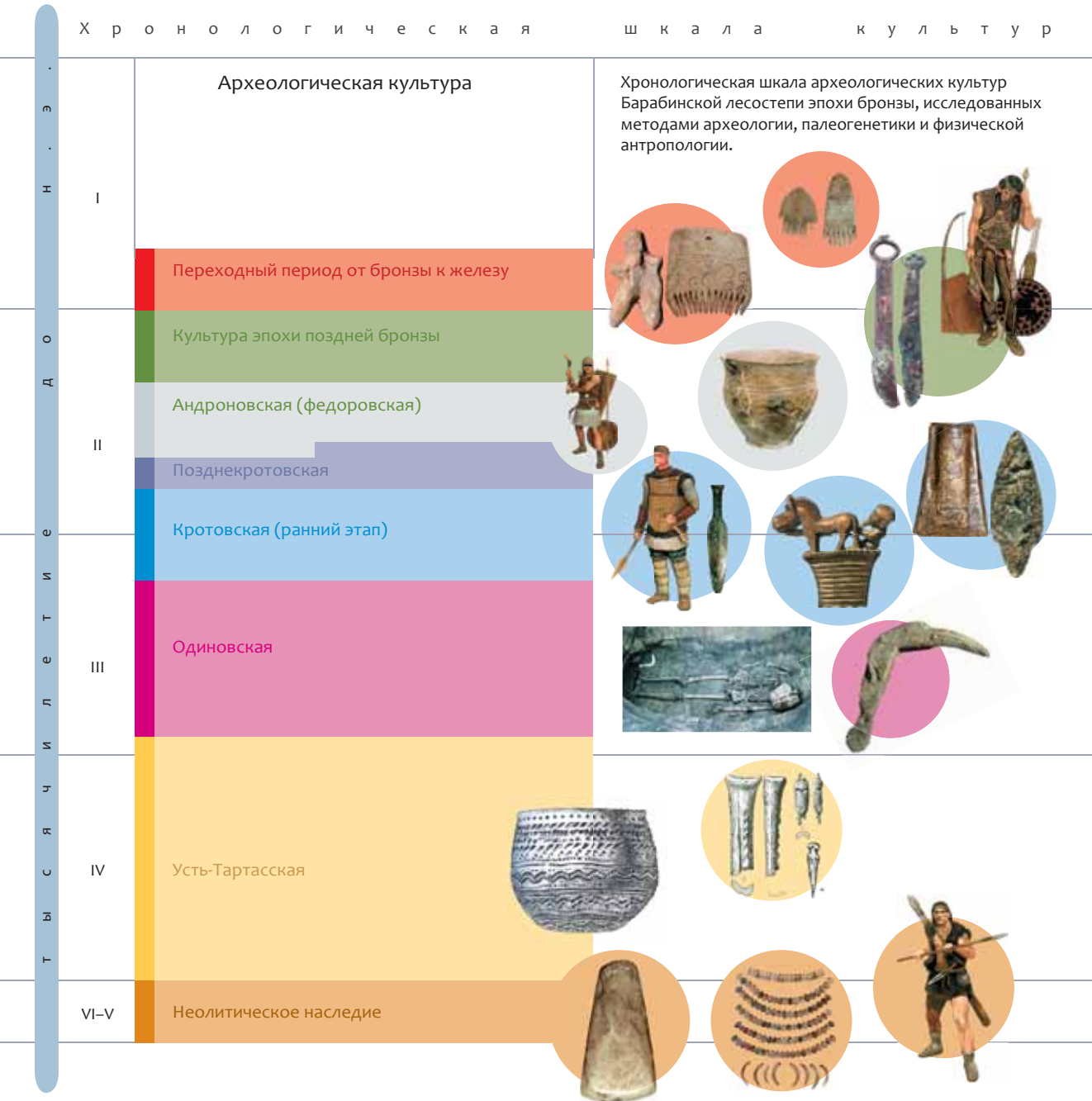


Рис. Филогенетическое дерево митохондриальной ДНК древних этнокультурных групп Барабы эпохи бронзы. Цветовое обозначение этнокультурной принадлежности образцов на дереве выполнено в соответствии с хронологической шкалой.



Межлабораторный семинар

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА, КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И БИОИНФОРМАТИКА



Подразделения семинара

Отдел молекулярной генетики

- Лаборатория регуляции экспрессии генов
- Лаборатория структуры генома
- Сектор молекулярно-генетических механизмов белок-нуклеиновых взаимодействий
- Сектор геномной и постгеномной фармакологии

Лаборатория молекулярной и клеточной биологии

- Сектор мутагенеза и репарации

Лаборатория эволюционной биологии клетки

- Сектор эволюционной геномики хирономид

Лаборатория генетики клеточного цикла

Лаборатория эпигенетики развития

Лаборатория молекулярной биологии клетки

Лаборатория морфологии и функции клеточных структур

Лаборатория молекулярных биотехнологий

- Межинститутский молодежный сектор промышленной микробиологии

Лаборатория популяционной этногенетики

Отдел системной биологии

- Лаборатория эволюционной биоинформатики и теоретической генетики
- Лаборатория молекулярно-генетических систем
- Сектор компьютерной протеомики
- Сектор высокопроизводительных вычислений в биоинформатике



Заведующая Т.И. Меркулова,
д.б.н., профессор
e-mail: merkti@niboch.nsc.ru

лаборатория РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ

Основные направления научных исследований

- Изучение организации регуляторной части эукариотического генома и расшифровка регуляторного транскрипционного кода ДНК. С этой целью в лаборатории проводится комплекс работ, включающих: 1) полногеномный анализ распределения сайтов связывания ряда факторов транскрипции с помощью метода иммунопреципитации хроматина в сочетании с методом массового параллельного секвенирования (ChIP-seq); 2) анализ организации сайтов связывания различных факторов транскрипции, разработку на этой основе компьютерных методов распознавания таких сайтов, их экспериментальную верификацию и последующее использование для изучения геномных последовательностей; 3) выявление и изучение потенциально регуляторных однонуклеотидных замен (SNP); 4) выявление и изучение генов, кодирующих транскрипционные факторы-представители семейства ядерных рецепторов в геноме *Opisthorchis felinus*.
- Изучение механизмов химического канцерогенеза, исследование механизмов действия противоопухолевых препаратов и разработка новых подходов к лечению онкологических заболеваний.

Одним из главных инструментов расшифровки регуляторного кода ДНК является поиск сайтов связывания факторов транскрипции с помощью компьютерных методов, но эффективность и надежность работы этих методов крайне низки в отсутствие их экспериментальной верификации. Сотрудниками лаборатории регуляции экспрессии генов и лаборатории теоретической генетики ИЦиГ СО РАН был предложен комплексный экспериментально-теоретический подход к анализу структуры сайтов связывания транскрипционных факторов и разработке методов их распознавания. С помощью такого подхода были созданы методы распознавания сайтов связывания факторов SF-1, SREBP и FoxA, пригодные для анализа геномных последовательностей. Применение разработанных методов позволило выявить 41 новый сайт связывания SF-1 в 19 генах системы стероидогенеза и 23 неизвестных ранее сайта связывания SREBP в 15 генах липидного метаболизма, обнаружить

несколько новых групп генов-мишеней SF-1 в геноме человека (гены рецепторов цитокинов, рецепторов факторов роста), а также выяснить, что связывание FoxA2 с хроматином клеток печени мыши (данные ChIP-seq анализа) в большинстве случаев происходит за счет взаимодействия этого белка непосредственно с ДНК. С помощью компьютерного метода SITECON был выявлен новый тип сайтов связывания транскрипционных факторов семейства FoxA – микросателлитный повтор TTTG (от 3 до 6 звеньев).

В лаборатории также получен ряд данных, показывающих, что ассоциированные с различными заболеваниями SNP в некодирующих частях гена приводят к исчезновению или появлению сайтов связывания факторов транскрипции. В частности, показано, что «чувствительный к пульмоноканцерогенезу» CA вариант SNP интрона 2 гена *K-ras* мыши соответствует комплексному сайту связывания факторов транскрипции GATA-6 и NF-Y, а в случае «устойчивого» GC варианта этот сайт разрушен.

С целью выяснения механизмов химического гепатоканцерогенеза определены профили экспрессии генов печени крысы в контроле и при обработке животных высококанцерогенным 3'-Me-ДАБ и низкоканцерогенным ОАТ с использованием олигонуклеотидных биочипов, содержащих 22000 зондов, соответствующих различным генам крысы. По результатам анализа данных выделены две группы генов: 1) 232 гена, уровень экспрессии которых

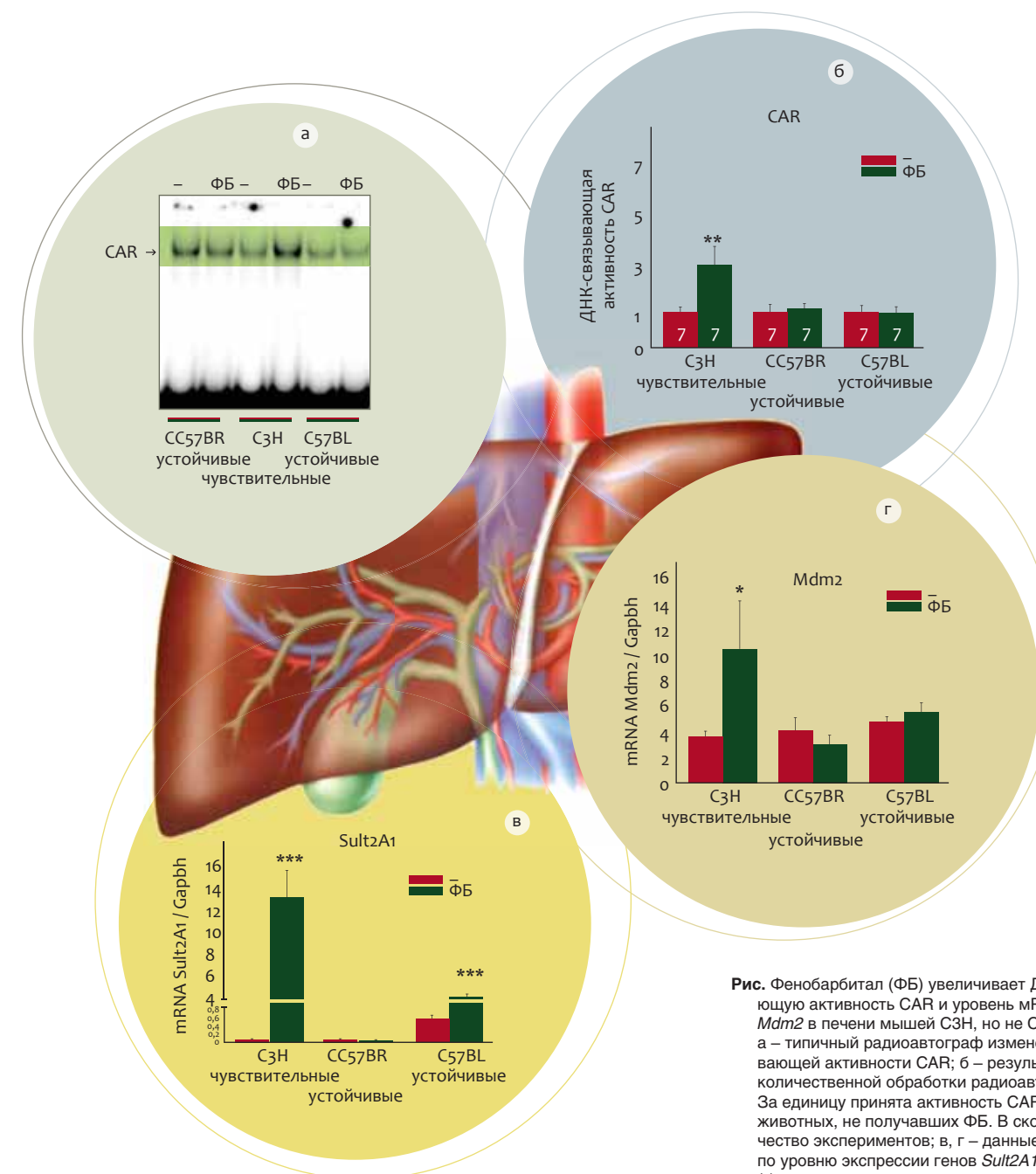


Рис. Фенобарбитал (ФБ) увеличивает ДНК-связывающую активность CAR и уровень мРНК *Sult2A1* и *Mdm2* в печени мышей СЗН, но не CC57BR и C57BL. а – типичный радиоавтограф изменения ДНК-связывающей активности CAR; б – результаты количественной обработки радиоавтографов. За единицу принята активность CAR в печени животных, не получавших ФБ. В скобках – количество экспериментов; в, г – данные RT-QPCR по уровню экспрессии генов *Sult2A1* (в) и *Mdm2* (г) представ-лены в относительных единицах от уровня экспрессии *Gapdh*. Достоверные отличия от животных, не получавших ФБ * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,005$.

достоверно отличается от контроля при обработке любым соединением, и 2) 408 генов, уровень экспрессии которых достоверно изменен при обработке 3'-Me-ДАБ по сравнению с ОАТ. Группировка генов по функциям с использованием базы Gene Ontology Biological Process (GO) показала, что около 20 % второй группы представлено генами, связанными с клеточным циклом и апоптозом, в то время как в первой группе такие гены отсутствуют, что указывает на вовлеченность регуляторных событий в процессы химического канцерогенеза.

На модели инбредных мышей, чувствительных (СЗН) и устойчивых (С57BL и CC57BR) к действию фенобарбитала как промотора опухолей печени, по-

казана ключевая роль конститутивного рецептора андростанов (CAR) в механизме действия этого соединения. Установлено, что только в печени мышей СЗН фенобарбитал активирует CAR (рис. а, б) и усиливает экспрессию его генов-мишеней: *SULT2A1* (рис. в), основного фермента катаболизма тиреоидных гормонов, и *MDM2* (рис. г), важного регулятора пролиферации и апоптоза. Таким образом, CAR-опосредованная стимуляция гепатоканцерогенеза фенобарбиталом может осуществляться за счет одновременного подавления опухолесупрессорной функции тиреоидных гормонов и индукции генов, непосредственно контролирующих пролиферацию и апоптоз.



Заведующий Г.М. Дымшиц,
д.б.н., профессор
e-mail: dimshits@niboch.nsc.ru

лаборатория
СТРУКТУРЫ ГЕНОМА

Основные направления научных исследований

- Качественная и количественная детекция минорных и уникальных последовательностей генома.
- Протеогликаны в онтогенезе и при различных патологиях.
- Анализ функционирования генома гипертензивных крыс линии НИСАГ.

Впервые для характеристики гетероплазматического состояния мтДНК растений применен метод высоко-чувствительного ПЦР в реальном времени с использованием гидролизующих флюоресцентно-меченных олигонуклеотидных зондов. Путем оценки копийности универсальных *N*- и *Svulg*-специфичных маркеров в мтДНК сахарной свеклы *N*- и *Svulg*-типов на расширенной выборке растений различных линий и сортов с использованием оптимизированной ПЦР в реальном времени впервые показано, что гетероплазмия является естественным состоянием мтДНК *Beta vulgaris* как *N*-, так и *Svulg*-типов и что количество доминирующего и минорного вариантов может различаться более чем на шесть порядков.

Разработана методика дискриминации генотипов 1–6 вируса гепатита С при помощи совмещенной ОТПЦР с мультиплексной детекцией в режиме реального времени. В основе лежит генотипспецифичный флюорогенный бинарный зонд, включающий более длинную «подошву», отделенную синтетическим линкером от короткого сегмента, несущего флюорофор и гаситель флюоресценции (рис.).

При сравнительном анализе протеогликанов (ПГ) контрольной и опухолевой тканей молочной железы человека показано изменение состава этих молекул, играющих важную роль в регуляции клеточной пролиферации. В опухолях резко снижается доля дерматансульфат протеогликанов. Снижение происходит как на уровне экспрессии гена белкового кора, так и на уровне биосинтеза углеводных цепей.

Проведено сравнение содержания ПГ мозга крыс Wistar и преждевременно стареющих крыс линии OXYS в ранний постнатальный период и во время формирования признаков ускоренного старения мозга, выражающегося в нарушениях в когнитивной сфере. Показано, что значительное снижение количества

ПГ мозга у крыс OXYS происходит в более ранние сроки онтогенеза и сопровождается 4-кратным увеличением степени сульфатирования гликозаминогликанов. Показана высокая положительная корреляция в динамике экспрессии генов ферментов полимеризации (EXT1 и EXT2) и деградации (гепараназа) гепарансульфатов внутри линий Wistar и OXYS.

На экспериментальной модели генетически обусловленной стресс-зависимой артериальной гипертонии – крысах линии НИСАГ (наследственная индуцируемая стрессом артериальная гипертония) – показано усиление функциональной активности гипоталамо-гипофизарно-адренотропной системы, что проявляется в повышенном содержании мРНК гена проопиомеланокортина (ПОМК) в гипофизе как у интактных крыс, так и у крыс при стрессе. У крыс линии НИСАГ при стрессе происходит рост количества мРНК генов кортикотропин-рилизинг гормона в гипоталамусе и ПОМК в гипофизе, чего не наблюдается у крыс нормотензивной линии WAG. При стрессе крысы линии НИСАГ демонстрируют также низкие уровни адренотропного гормона в гипофизе и плазме крови и повышенный уровень циркулирующего кортикостерона.

В патогенезе гипертонии крыс линии НИСАГ значительную роль играет симпатoadреналовая система. В гипоталамусе у молодых (1,5 мес.) крыс линии НИСАГ содержание мРНК гена тирозин-гидроксилазы (ТН), определенное методом ПЦР в реальном времени, в 3 раза превы-

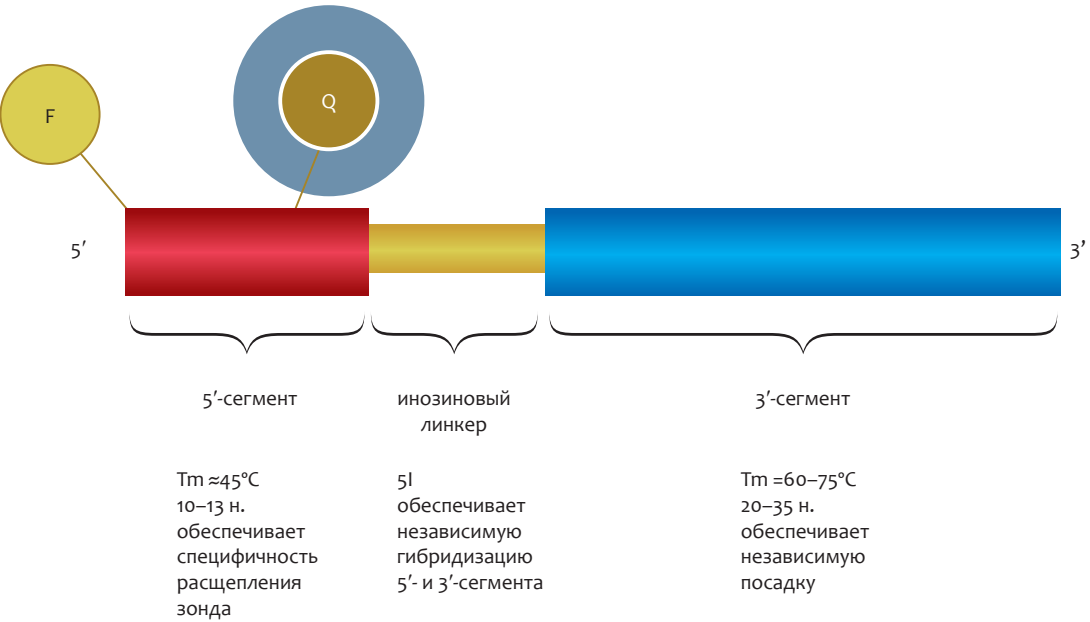


Рис. Строение бинарного зонда.

шает уровень мРНК этого гена у крыс линии WAG. У взрослых (4 мес.) крыс НИСАГ базальный уровень мРНК этого гена повышен в продолговатом мозге, а при стрессе обезвоживания возрастает втрое в гипоталамусе, в то время как у крыс линии WAG он остается неизменным.

Проведено изучение экспрессии ключевых генов ренин-ангиотензиновой системы (РАС) и гена *Cox-2* у крыс линии НИСАГ в сравнении с нормотензивной линией WAG в состоянии покоя и при стрессе обезвоживания. В почках взрослых (4 мес.) крыс НИСАГ обнаружено снижение экспрессии *Cox-2* и всех генов РАС, кроме ангиотензиногена (*Agt*), что позволяет отнести линию НИСАГ к группе моделей низкорениновой формы гипертонии. Однако у молодых крыс (1,5 мес.) содержание мРНК ренина в почке повышено вдвое при сниженном уровне экспрессии других генов РАС и *Cox-2*. Стресс обезвоживания у взрослых крыс приводил к резкому подъему уровня мРНК *Cox-2*, не влияя на экспрессию остальных генов. В сердце у взрослых крыс НИСАГ повышена экспрессия гена *Ace*. Водная депривация НИСАГ приводит уровень экспрессии *Ace* к уровню нормотензивных животных. В мозговых структурах молодых крыс НИСАГ повышен уровень мРНК *Agt*. Выявлен дисбаланс в экспрессии рецепторов ангиотензина II: в гипоталамусе повышено содержание мРНК гена рецептора AT2, в продолговатом мозге – AT1A. В надпочечниках молодых крыс НИСАГ экспрессия рецептора AT2 понижена. Повышенный уровень мРНК *Cox-2* выявлен у молодых крыс НИСАГ как в мозговых структурах, так и в надпочечнике. Последнее отражает характерную для крыс этой линии повышенную активность гипоталамо-гипофизарно-адренотропной системы.

В ходе выполнения междисциплинарного интеграционного проекта «Исследование и моделирование физиологических, молекулярно-генетических и биофизических механизмов формирования артериальной гипертонии» с использованием пакета программ BioUML создана модель, описывающая регуляцию артериального давления у человека как в краткосрочной, так и долгосрочной перспективе после внесения возмущения.



Заведующая Л.К. Савинкова,

к.б.н., с.н.с.

e-mail: savinkl@mail.ru

сектор

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ БЕЛОК-НУКЛЕИНОВЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

Основное направление научных исследований

- Исследование влияния полиморфизмов (SNPs – single nucleotide polymorphisms) ТАТА-боксов, ассоциирующихся с различными молекулярно-биологически и клинически подтвержденными патологиями человека, на взаимодействие с ТАТА-связывающим белком человека (hTBP).

Связь между взаимодействием ТВР с ТАТА-боксами промоторов и уровнем транскрипции генов очень важна для понимания механизмов регуляции транскрипции и экспрессии генов, но такие данные, особенно для генов человека, практически отсутствуют.

На основании полученных в секторе экспериментальных данных по взаимодействию ТВР дрожжей и человека с ТАТА-боксами промоторов генов млекопитающих М.П. Пономаренко и П.М. Пономаренко выведено точное уравнение равновесия четырех шагов связывания ТВР/ТАТА: неспецифическое связывание → скользящее → опознавание → стабилизация. С помощью уравнения проанализированы ТАТА-содержащие промоторы генов человека, ТАТА-боксы которых несут SNPs, ассоциированные с наследственными заболеваниями, и впервые в мире сделаны количественные прогнозы изменения этого взаимодействия в результате полиморфизмов ТАТА-боксов.

Анализ изменения сродства hTBP к ТАТА-боксам, содержащим SNPs, ассоциированные с наследственными заболеваниями, в частности раком легких, иммунодефицитом разной степени, амиотрофическим латеральным склерозом, анемией, бета-талассемиями различной тяжести, дельта- и альфа-талассемиями, показал, что в ~ 75 % случаев аффинность комплексов hTBP/ТАТА при различных заболеваниях отличается от аффинности hTBP/ТАТА здорового человека.

Для получения термодинамических и кинетических характеристик взаимодействия hTBP с SNPs-содержащими ТАТА-боксами – олигонуклеотидами (ODN) длиной 26 п.о. – использовалось три метода: классический метод EMSA, метод поверхностного плазмонного резонанса и метод остановленной струи

с Фертстеровским переносом энергии. Результаты представлены на рис. 1, 2.

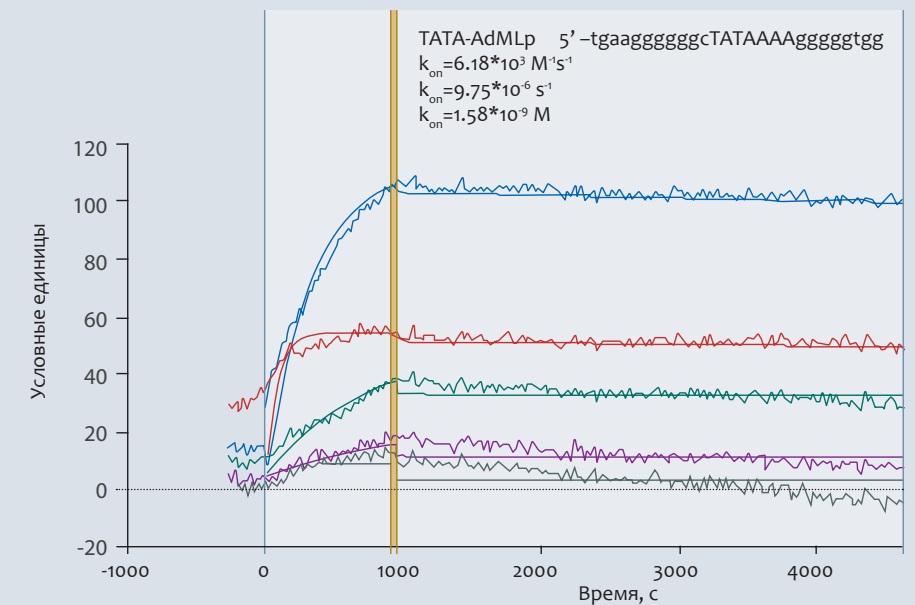
Впервые в мире в секторе начато изучение взаимодействия hTBP с олигонуклеотидами, идентичными «нормальным» и SNPs-содержащим ТАТА-боксам промоторов генов человека, ассоциированным с наследственными заболеваниями человека, при помощи метода поверхностного плазмонного резонанса (рис. 1).

В работе использован автоматический оптический биосенсор PROTEON XPR36 (BoiRad). Концентрации ODN и hTBP – 0, 100, 200, 500, 1000, 2000 нМ. Как видно из приведенных кривых, hTBP обладает высокой аффинностью к данному ODN, комплексы прочные и долгоживущие.

Для изучения кинетики быстрого взаимодействия «hTBP/ТАТА» и конформационных изменений белка и ДНК, происходящих в первые доли секунды связывания, используется метод остановленной струи (stopped flow) и метод Ферстеровского переноса энергии, FRET, спектрометр SX.18 MV.

Результаты проводимого исследования улучшат понимание молекулярных механизмов полиморфного разнообразия регуляции экспрессии генов, позволят заглянуть вглубь механизма связывания ТВР/ТАТА и улучшить исследовательские возможности компьютерных методов для предсказания и анализа потенциально значимых SNPs ТАТА-боксов и других регуляторных районов генов человека.

1



2

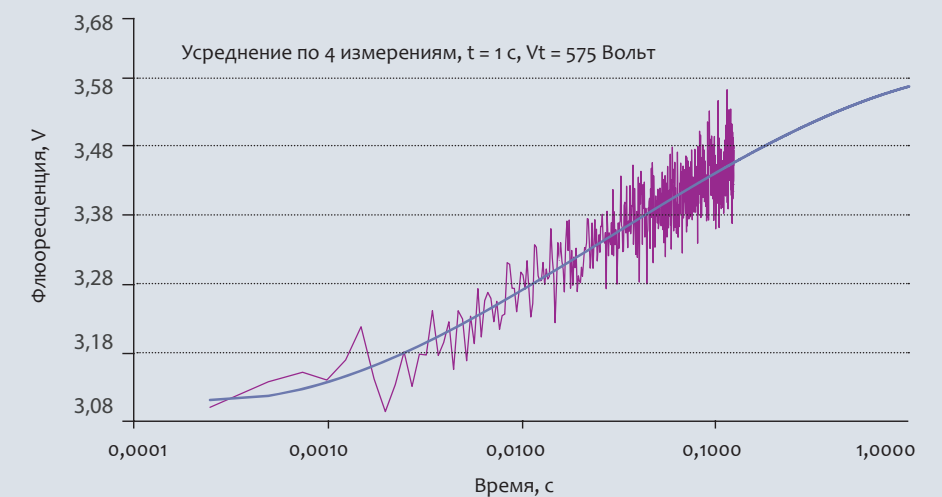


Рис. 1. Пример определения констант скоростей реакций связывания, диссоциации и равновесной константы диссоциации комплексов «hTBP/ТАТА» с ODN промотора AdML с помощью метода поверхностного плазмонного резонанса.

Рис. 2. Кинетика начальной стадии связывания «hTBP/ТАТА» с ODN промотора AdML.



Заведующая Н.Г. Колосова, д.б.н.
e-mail: kolosova@bionet.nsc.ru

сектор ГЕНОМНОЙ И ПОСТГЕНОМНОЙ ФАРМАКОЛОГИИ

Основные направления научных исследований

- Характеристика линии крыс OXYS как модели преждевременного старения.
- Поиск генетических детерминант преждевременного старения.
- Оценка эффективности новых способов профилактики и лечения ассоциированных со старением заболеваний.

Линия крыс OXYS создана в 70-е годы XX в. направленной селекцией крыс Wistar по признаку ранней спонтанной катаракты. В пяти первых поколениях развитие катаракты провоцировали обогащенной галактозой диетой. К 2011 г. получено 96-е поколение крыс OXYS со спонтанно развивающейся катарактой и сцепленно с ней наследуемым синдромом преждевременного старения. Его проявлениями становится раннее развитие ассоциированных со старением заболеваний: ретинопатии, остеопороза, повышенного давления и характерных для стареющих людей и животных изменений поведения на фоне ранних нейродегенеративных изменений в мозге. Модель плодотворно используется для выяснения механизмов преждевременного старения и объективной оценки эффективности новых методов диагностики, лечения и профилактики его проявлений.

Катаракта – признак, по которому контролируется состояние линии. Доказано, что по клиническим и морфологическим проявлениям развивающиеся у крыс OXYS изменения хрусталиков близки тем, которые происходят у людей с сенильной катарактой. Так же, как и у людей, развитие катаракты у крыс OXYS связано со снижением экспрессии основных белков хрусталиков кристаллинов, однако на ранних, доклинических, стадиях развития заболевания она повышена (рис. 1).

Параллельно с катарактой к возрасту 3 мес. у крыс OXYS развивается ретинопатия – дистрофические изменения сетчатки, аналогичные происходящим при возрастной макулярной дегенерации (ВМД) – заболевании, являющемся основной причиной снижения и потери зрения у людей старшего возраста в развитых странах. Патогенез ВМД связан с неоваскуляризацией, но до конца не ясен. Впервые изучены изменения экспрессии генов ключевых регуляторов ангиогенеза

в сетчатке – эндотелиального фактора роста *Vegfa* и его антагониста – фактора пигментного эпителия *Pedf* у крыс OXYS и контрольных крыс Wistar в онтогенезе (рис. 2, а, б). Доказано, что развитие ретинопатии у крыс OXYS связано с генетически детерминированными нарушениями экспрессии этих генов. В их основе лежат структурно-функциональные изменения клеток ретинального пигментного эпителия: дистрофические на доклинических стадиях заболевания и дегенеративные – на поздних (рис. 2, в).

Проявления преждевременного старения мозга крыс OXYS – повышенный уровень тревожности, сниженная двигательная и исследовательская активность, нарушение пространственной памяти – развиваются на фоне нейродегенеративных изменений мозга (рис. 3). По данным МРТ, они формируются к возрасту 3 мес. и с возрастом прогрессируют.

Пример успешного использования крыс OXYS – выявление уникального терапевтического потенциала пластохинонил-децил-трифенил-фосфония (SkQ1) (Скулачев, 2007) – антиоксиданта, способного проникать и накапливаться в митохондриях – основном источнике активных форм кислорода в клетках. Доказана способность этого соединения не только задерживать развитие катаракты и ретинопатии у крыс OXYS, но и снижать выраженность уже развитых патологических изменений хрусталиков и сетчатки. Показано, что характер изменения

экспрессии генов *Vegfa* и *Pedf* в сетчатке под влиянием SkQ1 зависит от генотипа животных, а его терапевтический эффект в отношении ретинопатии у крыс OXYS связан с нормализацией экспрессии этих генов. Антикатарактальный эффект антиоксиданта связан с нормализацией или существенным усилением экспрессии генов кристаллинов в клетках эпителия хрусталиков. Использование линии крыс OXYS позволило сократить путь от синтеза SkQ1 до клинических испытаний созданного на его основе лекарственного препарата Визомитин до 5 лет.

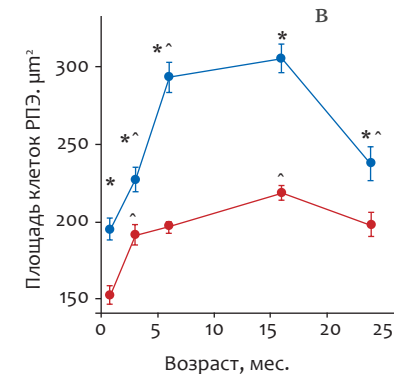
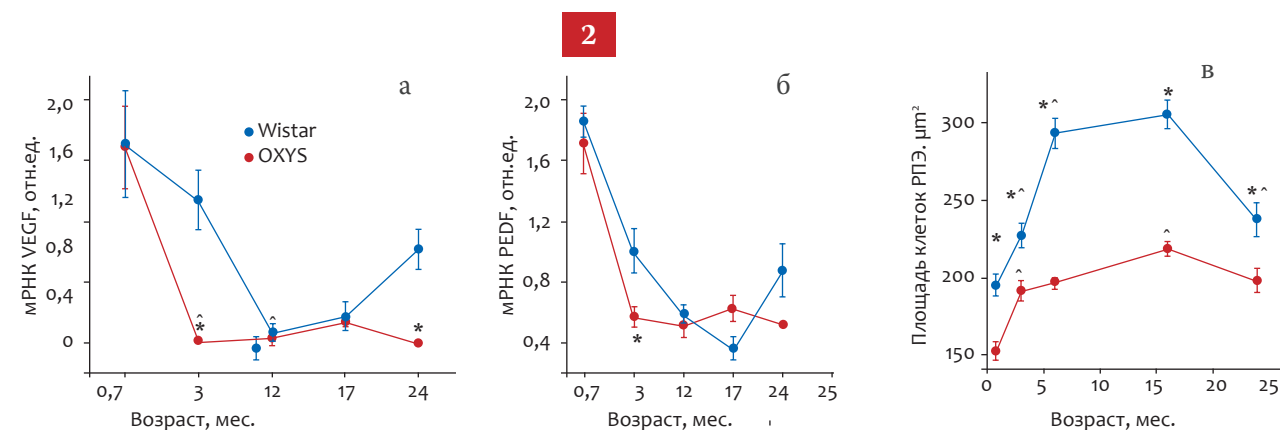
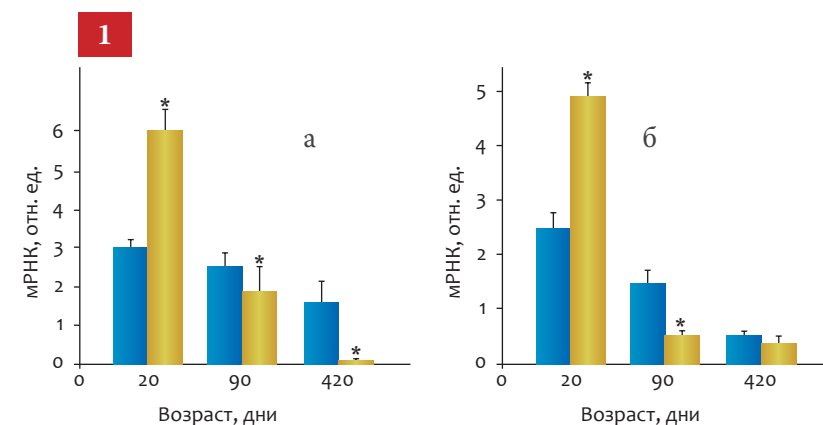
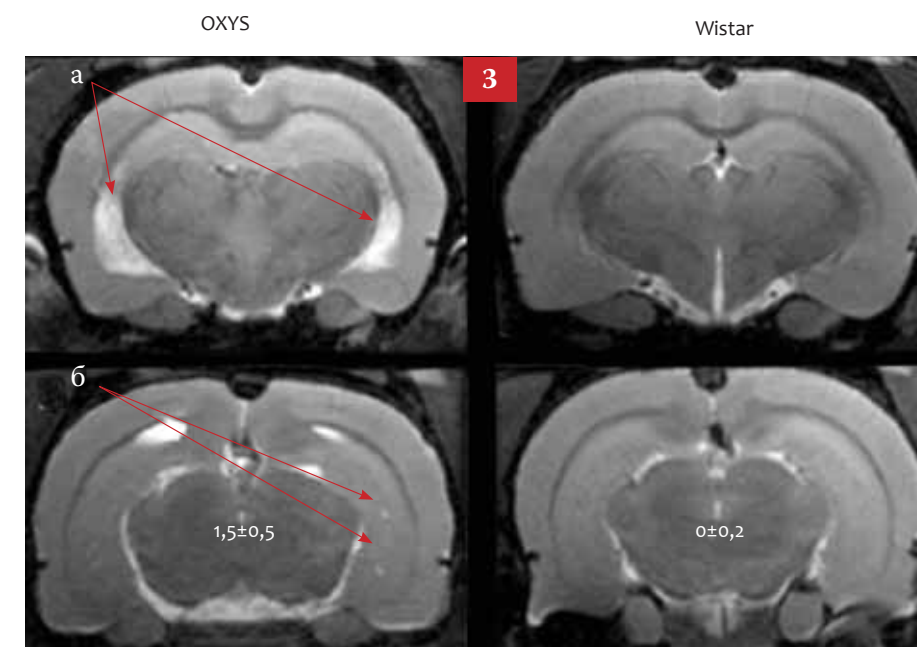


Рис. 1. Изменения с возрастом в хрусталиках крыс OXYS и Wistar уровня мРНК.
а – αВ-кристаллинов; б – αА-кристаллинов (метод RT-PCR). Данные нормированы на мРНК гена *RPL 30*.

Рис. 2. Изменения с возрастом уровня мРНК генов: а – *Vegfa* и б – *Pedf* (метод RT-PCR, данные нормированы на мРНК гена *RPL 30*) в сетчатке и площади клеток ретинального пигментного эпителия (в) крыс Wistar и OXYS разного возраста.

Рис. 3. Аксиальные срезы головного мозга крыс OXYS и Wistar. Видны увеличение размеров боковых желудочков (а) и наличие очагов демиелинизации (б) у крыс OXYS. Исследование проводилось на сверхвысокопольном томографе «BioSpec 117/16», Bruker, ИЦиГ СО РАН.





Заведующий В.А. Мордвинов, д.б.н.
e-mail: mordvin@bionet.nsc.ru

лаборатория МОЛЕКУЛЯРНОЙ И КЛЕТОЧНОЙ БИОЛОГИИ

Основные направления научных исследований

- Генетика, геномика и транскриптомика трематод семейства Opisthorchiidae.
- Изучение экспрессии макрофагальных генов в ответ на действие ксенобиотиков.

Работа лаборатории сосредоточена на исследовании фундаментальных проблем геномики, транскриптомики и молекулярной паразитологии. Одно из основных направлений – генетика, геномика и транскриптомика трематод семейства Opisthorchiidae. С точки зрения фундаментальной науки представители этого семейства трематод являются весьма интересными и перспективными объектами для изучения процессов возникновения и эволюции генетических систем многоклеточных эукариот, вовлеченных в формирование билатеральной симметрии, метамерности и сегментности, клеточной и врожденной иммунной системы. Весьма существенно, что в геноме этих организмов заключена информация о пяти морфологически отличающихся жизненных формах, соответствующих различным стадиям жизненного цикла трематод.

Лаборатория молекулярной и клеточной биологии активно участвует в работах по секвенированию генома и транскриптома печеночного сосальщика *Opisthorchis felineus*, являющегося типичным представителем семейства Opisthorchiidae. Данные, полученные в результате реализации этого проекта, окажут неоценимую помощь при исследовании организации и функции геномов и генетических программ развития древних многоклеточных животных. Кроме того, они могут быть использованы в прикладных исследованиях по выявлению генов и белков-мишеней для разработки эффективной антипаразитарной терапии.

Описторхоз, вызываемый трематодой *O. felineus*, широко распространен среди населения Западной Сибири и других регионов России. Известно, что заметная доля больных описторхозом поражена не только этим гельминтом, но и другими видами печеночных сосальщиков семейства описторхид (рис. 1). Фундаментальная задача, над решением которой также работает лаборатория, – выявление и оценка ге-

нетического разнообразия эпидемиологически важных видов трематод семейства Opisthorchiidae, прежде всего *O. felineus*, *O. viverrini*, *Clonorchis sinensis* и *Metorchis bilis*.

Работы по генотипированию трематод семейства Opisthorchiidae проводятся с использованием митохондриальных и ядерных маркеров. Для выявления наиболее информативных генетических маркеров определена полная последовательность митохондриальных геномов *O. felineus*, *O. viverrini*, *Clonorchis sinensis*. Разработанная система маркеров активно используется для генотипирования образцов эпидемиологически значимых гельминтов человека и животных.

В лаборатории сформирована уникальная коллекция, содержащая более 700 образцов различных видов гельминтов, вызывающих тяжелые заболевания человека и животных. Образцы собраны как на территории России, так и за рубежом (рис. 2, а). С использованием современных методов секвенирования проведено генотипирование значительной части образцов, представленных в коллекции (рис. 2, б, в). Результаты генотипирования имеют большое значение для развития исследований в области зоогеографии, молекулярной филогении, популяционной и эволюционной биологии возбудителей биогельминтозов, а также для разработки новых методов ДНК-диагностики эпидемиологически значимых паразитозов человека и животных.

Второе важнейшее направление работы лаборатории молекулярной и клеточной биологии – исследование

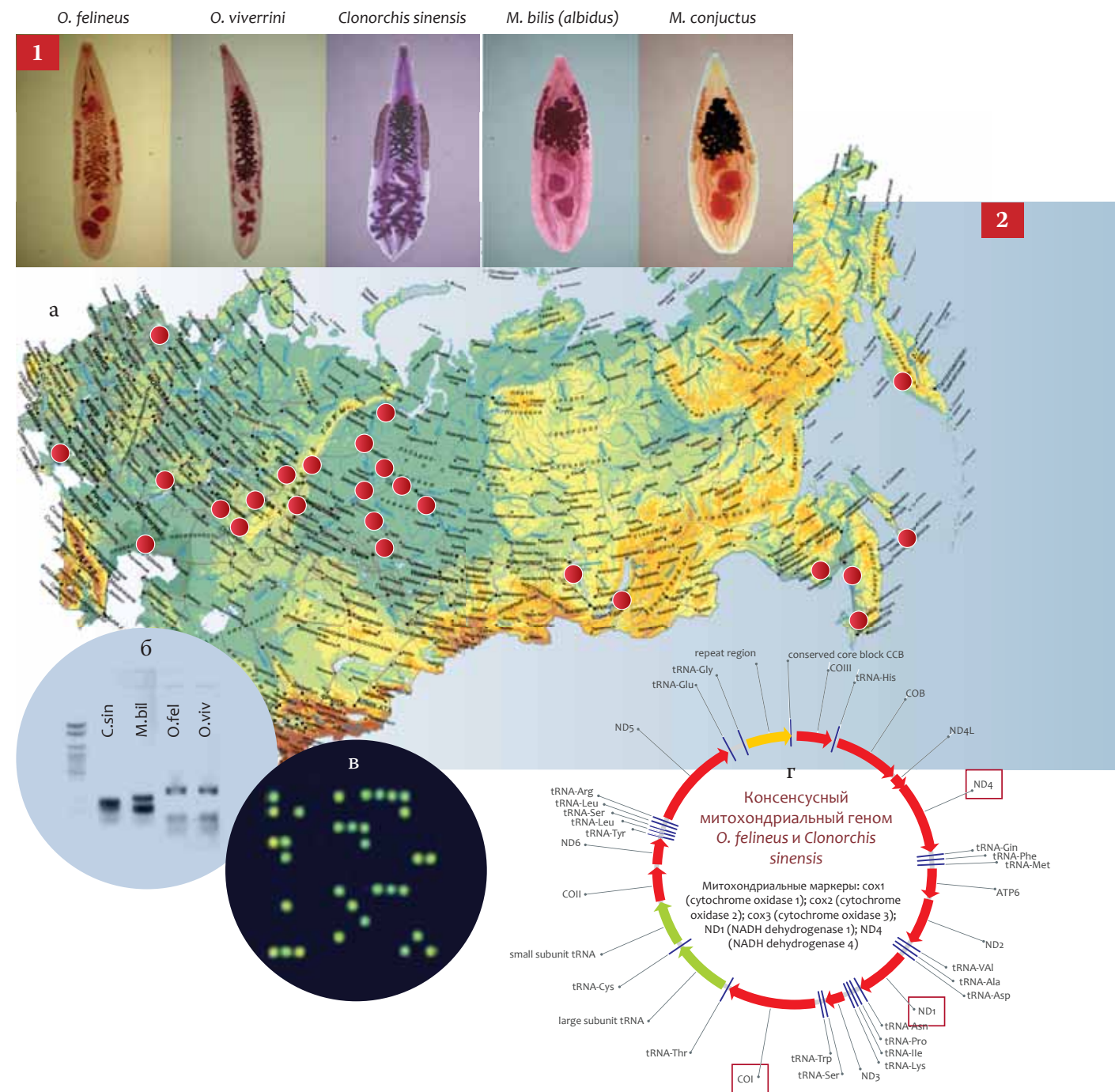


Рис. 1. Возбудители описторхозов.

Рис. 2. Формирование коллекции образцов возбудителей биогельминтозов и разработка методов ДНК-диагностики этих заболеваний. а – красными кружками на карте обозначены точки сбора образцов гельминтов, представленных в коллекции. Разработка методов ДНК-диагностики биогельминтозов; б – ПЦР-технология с последующим гель-электрофорезом: *Clonorchis sinensis* (C. sin), *Metorchis bilis* (M. bil), *Opisthorchis felineus* (O. fel), *Opisthorchis viverrini* (O. viv); в – биочипы для идентификации видового состава биогельминтозов; г – консенсусный митохондриальный геном двуусток, использованный в качестве основы для разработки маркеров при генотипировании возбудителей биогельминтозов.

экспрессии генов при активации макрофагов в ответ на ксенобиотики. Актуальность этой работы обусловлена интенсивным загрязнением окружающей среды ксенобиотиками, например полиароматическими углеводородами и диоксинами, способными влиять на метаболизм живых организмов и, прежде всего, организм человека. На уровне организма ксенобиотики вызывают широкий спектр системных эффектов, среди которых и воздействие на иммунную систему, в частности на макрофаги. Цель исследований данного направления – интегральная оценка уровня экспрессии больших генных ансамблей при активации макрофагов в ответ на ксенобиотики и реконструкция механизмов действия отдельных ксенобиотиков на иммунную систему человека. Полученные данные позволят решить ряд фундаментальных задач, связанных с идентификацией сигнальных путей, индуцируемых ксенобиотиками в макрофагах; определением генов-мишеней отдельных ксенобиотиков и их функциональной роли в активации макрофагов. Кроме того, результаты работ этого направления могут быть использованы при создании нового поколения фармакологических средств для лечения расстройств, связанных с воздействием ксенобиотиков на организм человека.



Заведующий С.Н. Щелкунов,
д.б.н., профессор
e-mail: snshchel@rambler.ru

сектор
МУТАГЕНЕЗА И РЕПАРАЦИИ

Основные направления научных исследований

- Изучение молекулярных механизмов мутагенеза у про- и эукариот.
- Исследование закономерностей возникновения соматических мутаций митохондриальной ДНК в норме и при патологиях с использованием различных моделей (экспериментальных животных, опухолевых клеток человека и животных).
- Получение в генно-инженерных системах *Escherichia coli* и бакуловирусов продуцентов белков различного происхождения и их мутантных форм с целью изучения для этих белков взаимосвязи структура–функция.
- Изучение мутагенного и канцерогенного действия различных химических и физических факторов в бактериальных тест-культурах.

Разработан метод иммунофлюоресцентного анализа относительного количества 8-oxodG (8-оксогуанина) в ДНК, основанный на взаимодействии 8-oxodG с моноклональными антителами. Подобраны оптимальные условия для количественного определения 8-оксогуанина в различных отделах головного мозга *in situ* и отработан метод многоцветного совместного иммуногистохимического количественного определения повреждений ДНК (8-оксогуанина) и белков репарации ДНК OGG1 (8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы) при помощи соответствующих антител. С помощью метода иммуногистофлюоресцентного окрашивания определены относительное количество и локализация 8-оксodG и 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы в различных клетках нервной ткани (нейронах, нестин-содержащих клетках и в клетках глии и астроцитах) гиппокампа и фронтальной коры головного мозга крыс разновозрастных групп (рис. 1).

Определены полные нуклеотидные последовательности мтДНК крыс линий OXYS и Wistar. Оценена частота и проанализированы спектры соматических точковых мутаций в мтДНК печени и гиппокампа крыс линий OXYS и Wistar в возрасте 3 и 12 месяцев.

Исследована динамика накопления крупных делеций мтДНК в печени и гиппокампе крыс линий OXYS и Wistar от 1 дня до 3 лет.

Исследован ряд принципиально новых антиоксидантных препаратов в бактериальных тест-системах и на модельных животных. Показано, что различные антиоксидантные препараты могут показывать различающийся эффект (как снижать количество делеций в мтДНК гиппокампа (SkQ), так и увеличивать количество делеций в мтДНК гиппокампа (F3)).

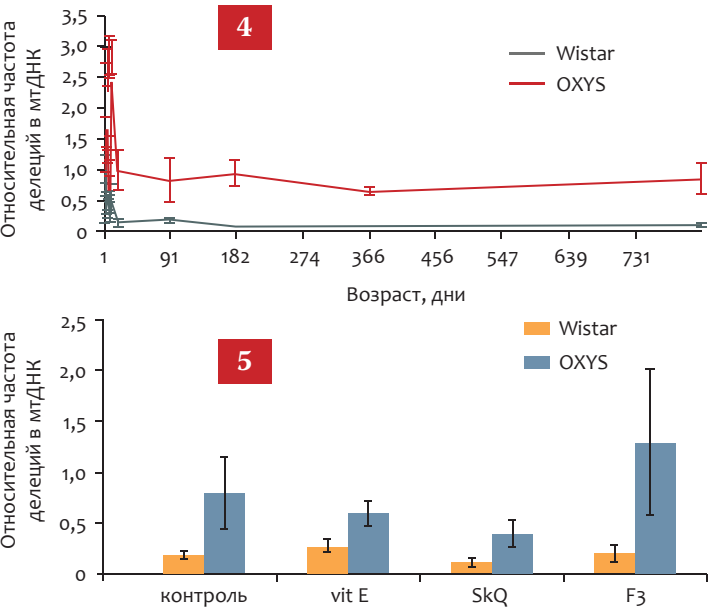
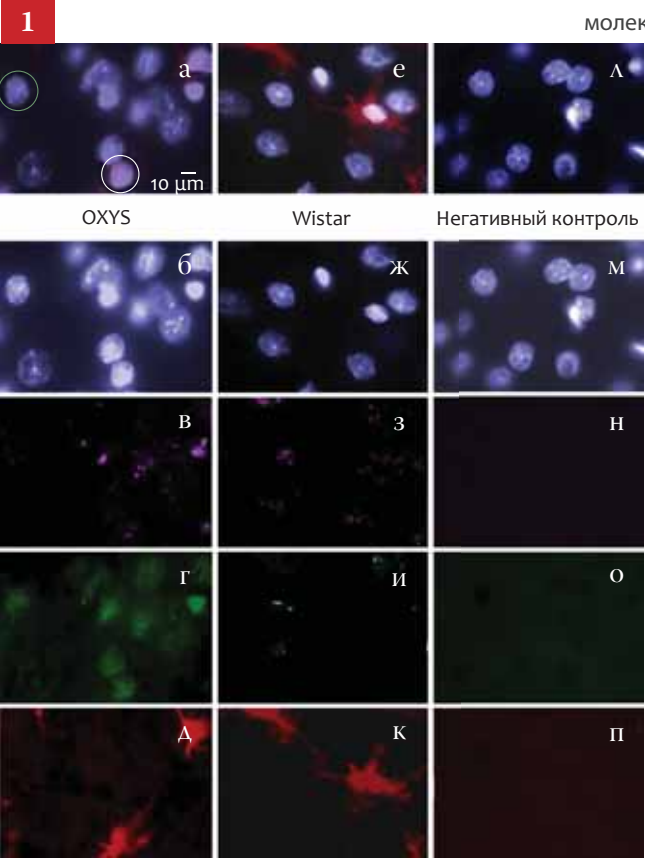


Рис. 1. Иммунофлюоресцентная локализация 8-oxoG и OGG1 в криостатных срезах мозга крыс линий OXYS и Wistar. Флюоресцентные микрофотографии срезов мозга (18 мкм). Четырехцветная окраска позволяет визуализировать на одном препарате локализацию 8-oxoG (зеленая окраска) и OGG1 (розовая окраска) в ядрах астроцитов (ядра клеток, одновременно окрашенные в красный и синий цвета, отмечены кругом белого цвета (а) и немаркированных клеток (ядра, окрашенные в синий и неокрашенные в красный цвета, отмечены кругом зеленого цвета (а)).

Рис. 2. Гетерогенность распределения мутаций в исследованных клонах. В возрасте 12 месяцев все изученные клоны с исследуемым районом мтДНК содержали мутации. Гетерогенность мутаций в 12 месяцев – мутантные клоны содержали различное число точечных мутаций: от 1 до 13 в клонах мтДНК крыс линии Wistar (ИЦиГ); от 1 до 9 – линия OXYS; от 1 до 7 – линия Wistar (Пущино).

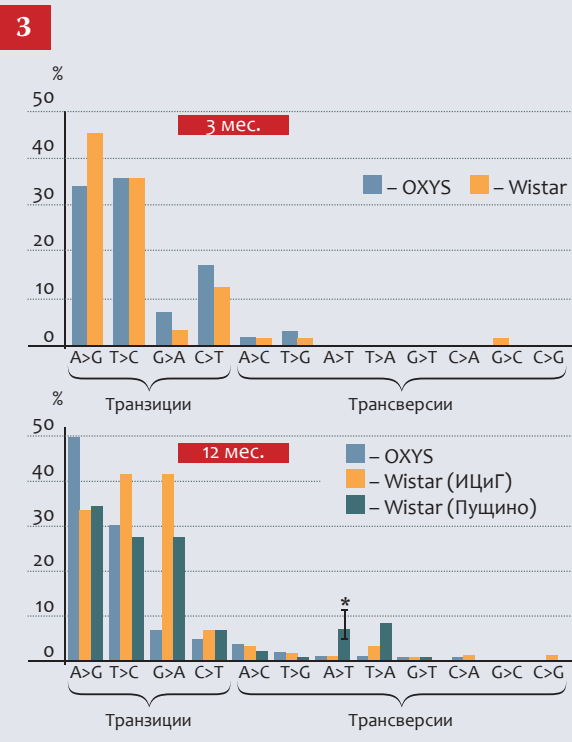
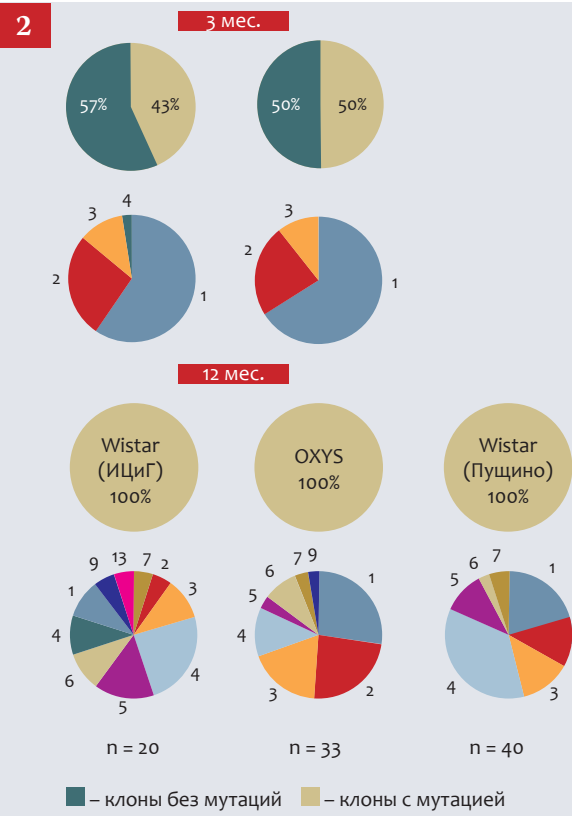


Рис. 3. Распределение точечных замен в мутационных спектрах. Гетерогенность распределения мутаций в исследованных клонах. Частота транзиций (G > A, C > T, A > G, T > C) в мутационных спектрах мтДНК крыс линий OXYS и Wistar составила более 90 % всех точечных замен. Показано, что 8-oxo-G, индуцирующий замены G > T и C > A, не является основным источником мутаций.

Рис. 4. Накопление делеций в мтДНК гиппокампа крыс линий OXYS и Wistar.

Рис. 5. Влияние антиоксидантных препаратов на относительную частоту делеций в гиппокампе крыс линий OXYS и Wistar.



Заведующая Э.М. Баричева, к.б.н.

e-mail: barich@bionet.nsc.ru

лаборатория ЭВОЛЮЦИОННОЙ БИОЛОГИИ КЛЕТКИ

Основные направления научных исследований

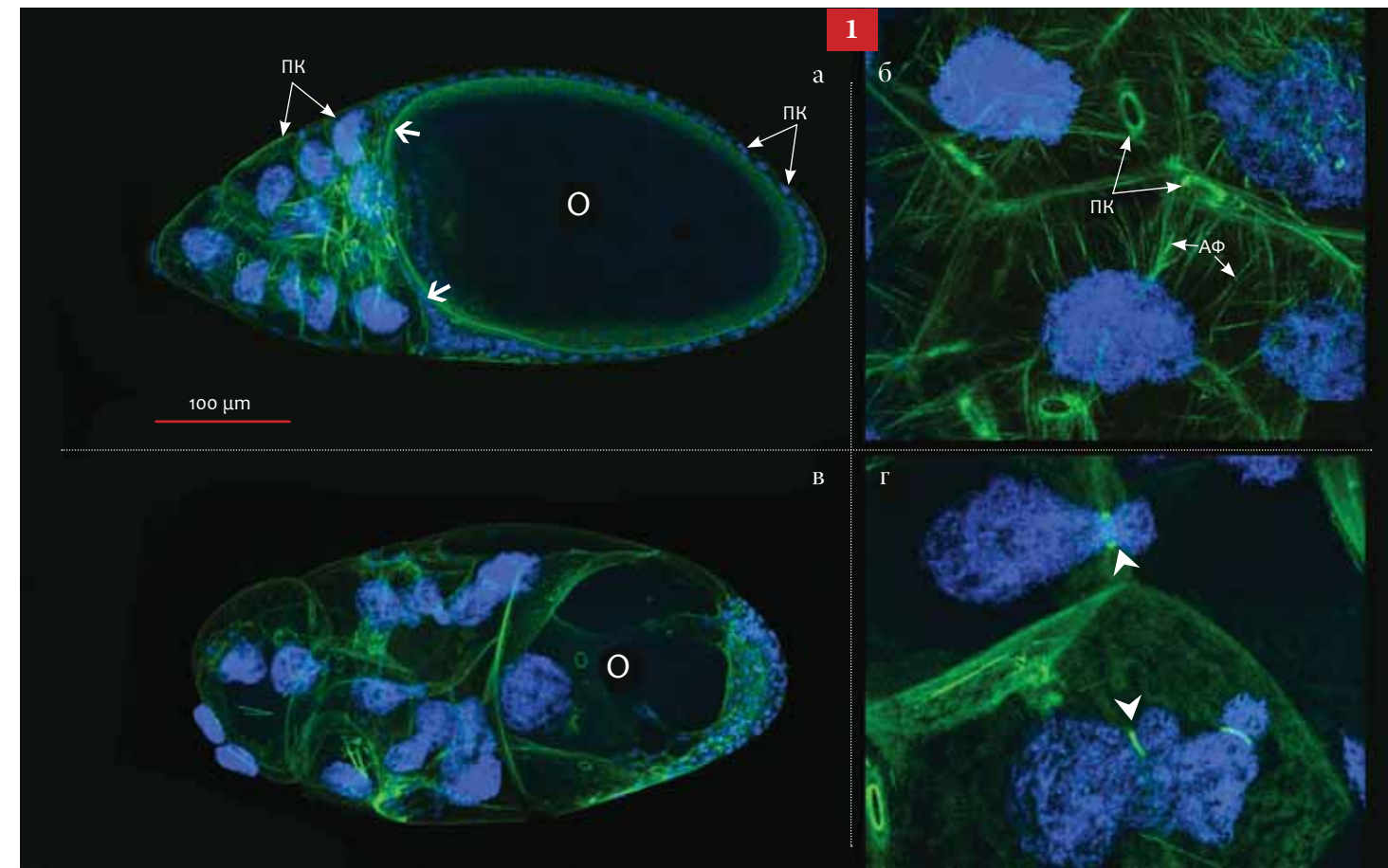
- Изучение структуры и функции генов *Drosophila melanogaster*.
- Анализ особого класса мутаций, названных условными.

Полученный в лаборатории набор мутаций по гену *Trithorax-like (Trl)* позволил установить в 5'-некодирующей области и во втором интроне гена районы, требующиеся для обеспечения его правильной экспрессии в разных типах клеток и на разных стадиях развития. Удаление этих районов приводит к серьезным проблемам в онтогенезе мутантов. Так, было установлено, что удаление 96 п.о. в 5'-области гена приводит к нарушениям в оогенезе мутантов. Удаление фрагмента в конце второго интрона гена является причиной снижения жизнеспособности мутантов, выращенных при 29 °С, более чем в 10 раз.

Была исследована роль продукта гена *Trl* – белка GAGA, в процессах оогенеза, сперматогенеза, а также формирования глаза дрозофилы. В результате было установлено, что недостаток транскрипционного фактора GAGA приводит к сильнейшим нарушениям в протекании всех вышеперечисленных процессов. Так, недостаток GAGA приводит к нарушениям в функционировании как питающих, так и соматических клеток яйцевых камер в ходе оогенеза дрозофилы. В питающих клетках (ПК) наблюдаются дефекты в формировании цитоплазматических актиновых филаментов – специализированного типа филаментов, удерживающих большие полиплоидные ядра питающих клеток вдали от кольцевых канальцев во время фазы быстрого транспорта цитоплазмы из ПК в ооцит. В результате у *Trl*-мутантов ядра ПК блокируют кольцевые канальцы, что приводит к остановке транспорта цитоплазмы в ооцит (рис. 1), это является причиной нарушений в формировании ооцита и стерильности самок *Trl*-мутантов. У мутантов наблюдаются также нарушения в миграции центрипетальных, бордюрных клеток, а также клеток, покрывающих яйцевую камеру (рис. 1). Кроме того, впервые было установлено, что данный белок необходим для обеспечения процесса

сперматогенеза. У самцов наблюдаются дефекты формирования половой системы, а также редукция числа спермиев и их неправильное формирование. У *Trl*-мутантов обнаруживаются сперматиды, содержащие увеличенное или уменьшенное количество хроматина по сравнению с нормой, а также сперматиды с недостающим митохондриальным материалом, во всех цистах нарушена стадия индивидуализации. В настоящее время в лаборатории исследуются гены, контролирующие развитие глаза дрозофилы. Особое внимание уделяется выявлению взаимодействия между генами в процессе развития глаза и изучению этих регуляторных каскадов.

В лаборатории ведутся также работы по выявлению и анализу условных мутаций. Эти мутации проявляются не у всех, а только у некоторых представителей вида. Были разработаны методики выделения условных мутаций у *Drosophila melanogaster*. Получены коллекции мутаций в хромосомах X, 2 и 3. Условными «проявления/непроявления» мутаций являются пол особи или хромосомная перестройка. Полученные условные мутации отличаются от обычных мутаций целым набором свойств. Главнейшими из них (кроме условности проявления) являются: доминантный тип проявления, зависимость проявления от пространственного расположения хромосомного материала в геноме, родительский эффект, повышение уровня энергообмена мутанта, способность переводить геном из стабильного состояния в нестабильное. Нестабиль-



ность выражается в: образовании новых мутаций, потере и нерасхождении хромосом в мейозе и митозе, образовании модификаций и морфозов (рис. 2), изменении проявления мутации в зависимости от времени нахождения ее в культуре. Предполагается, что условные мутации являются мутантными вариантами обширной Gene Regulatory Network дрозофилы. Из проведенной работы следует, что гены этой категории можно выявлять не только методами нокаута и микрочипирования, но и с помощью мутагенеза и гибридологического анализа.

Рис. 1. Нарушения, наблюдаемые в яйцевых камерах сильных *Trl*-мутантов. Яйцевые камеры 11-й стадии развития, окрашенные фаллоидином (зеленый) и DAPI (синий). Яйцевые камеры самок дикого типа (а, б) и *Trl*-мутантов (в, г). У *Trl*-мутантов цитоплазматические актиновые филаменты отсутствуют, ядра питающих клеток блокируют кольцевые каналы. Нарушена миграция фолликулярных клеток, большинство фолликулярных клеток у мутантов сосредоточено в заднем конце ооцита. ПК – питающие клетки, ФК – фолликулярные клетки, КК – кольцевые каналы, АФ – цитоплазматические актиновые филаменты, О – ооцит. Стрелками показаны центрипетальные клетки.

Рис. 2. Морфоз «ротация брюшка» (нарушение развития у особи с условной мутацией).





Заведующая В.В. Голыгина, к.б.н.
e-mail: nika@bionet.nsc.ru

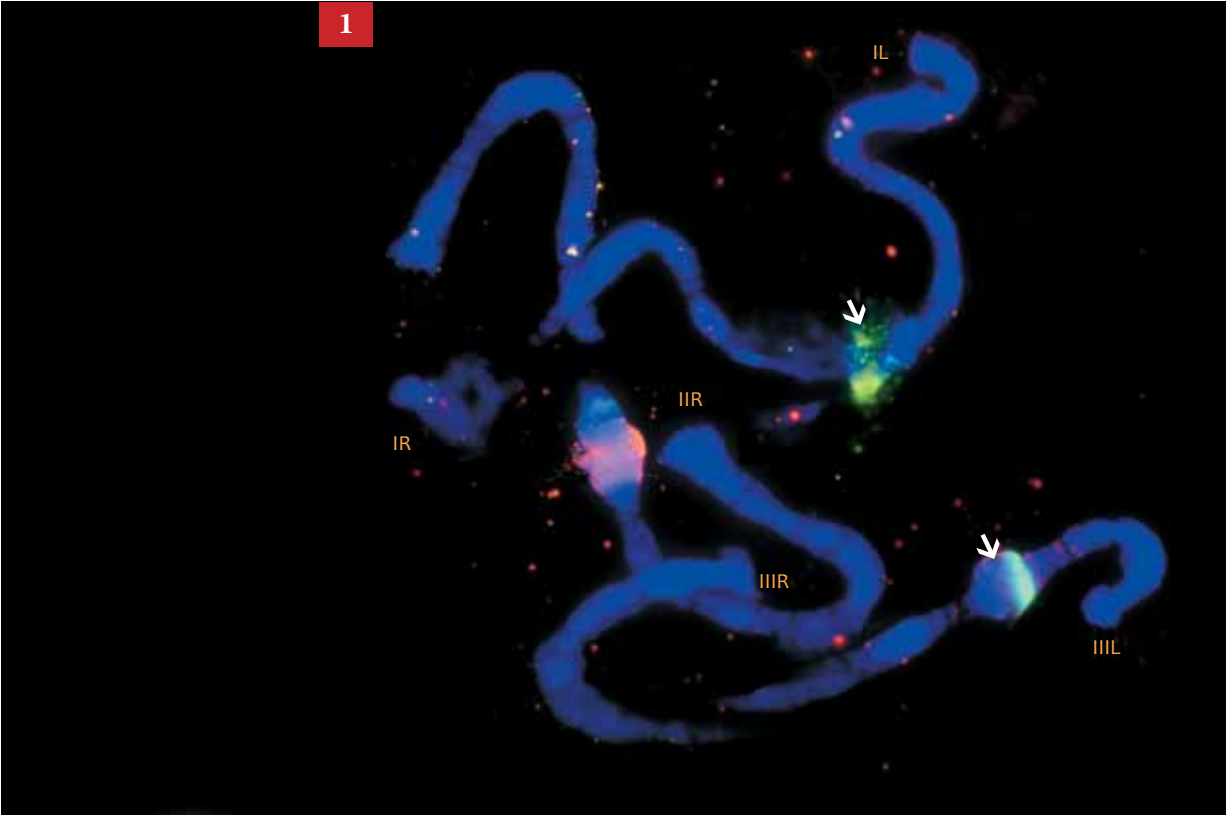
сектор
ЭВОЛЮЦИОННОЙ
ГЕНОМИКИ ХИРОНОМИД

Основное направление научных исследований

- Изучение эволюции кариотипов, хромосомного полиморфизма в природных популяциях и молекулярной организации генома с использованием в качестве модельного объекта комаров-звонцов сем. Chironomidae.

Использование методов цитогенетического картирования позволило нам создать цитофотокарты политенных хромосом для более чем 100 видов рода *Chironomus*. Также нами был изучен внутривидовой и межвидовой инверсионный полиморфизм последовательностей дисков и определен общий кариофонд рода *Chironomus*, который в настоящее время включает по меньшей мере 1500 последовательностей дисков. На основании этих данных нами были впервые построены филогенетические деревья для рода *Chironomus*, основанные на анализе 70 % генома. Нами изучены закономерности дивергенции последовательностей дисков политенных хромосом у видов рода *Chironomus* на 4 континентах (Евразия, Северная Америка, Африка, Австралия) и предложена гипотеза о возможных путях расселения видов хирономид в процессе разделения материков. Были выявлены группы базовых последовательностей дисков, встречающихся на двух и более континентах, в том числе космополитные последовательности, найденные на всех изученных континентах, что позволяет заключить, что эти последовательности дисков сохранились в кариофонде рода со времени существования суперконтинента Пангеи и являются наиболее примитивными. Сравнивая распределение эндемичных и базовых космополитных и некосмополитных последовательностей по материкам и процесс формирования материков, мы предложили гипотетическую схему эволюционной дивергенции последовательностей и гипотетическую модель примитивного кариотипа в роде *Chironomus*.

Параллельно с изучением цитогенетической дивергенции генома хирономид ведется работа по изучению молекулярных особенностей дивергенции геномов видов рода *Chironomus*, в частности изучение особенностей строения и дивергенции центромерных районов. Хирономиды, в особенности род *Chironomus*, предоставляют целый спектр возможностей для изучения дивергенции центромерной ДНК на разных уровнях – межпопуляционном, в группах видов-близнецов, между хорошо дивергировавшими видами и между разными цитоккомплексами. С помощью микродиссекции нами были получены ДНК-библиотеки центромерных районов хромосом видов-близнецов из группы *Ch. plumosus* (цитоккомплекс thummi) из центромерных



районов и С-положительных дисков хромосом вида *Ch. dorsalis* (цитоккомплекс pseudothummi), из центромерных и прицентромерных районов вида *P. akamusi* (п/сем. Ortocladiinae) (рис. 1). Проведена локализация полученных ДНК-проб на хромосомы изучаемых видов и показано, что у видов рода *Chironomus* в большинстве случаев ДНК из центромерного района одной хромосомы локализуется в центромерных районах всех остальных хромосом кариотипа, т. е. для видов р. *Chironomus* характерна высокая гомология ДНК центромерных районов всех хромосом кариотипа. Кроме того, у части близкородственных видов также имеется межвидовая гомология центромерной ДНК. В то же время в р. *Prosilocerus* ДНК центромерных районов разных хромосом одного кариотипа проявляет низкую степень гомологии, а FISH ДНК-проб одного вида на хромосомы другого вида вообще не дает сигнала, т. е. в данном роде закономерности дивергенции ДНК центромерного гетерохроматина значительно отличаются от тех, что наблюдаются в р. *Chironomus*.



Рис. 1 . FISH ДНК-проб из центромерного района хромосомы II (красный сигнал) и прицентромерного диска хромосомы III (зеленый сигнал) на политенные хромосомы *Prosilocerus akamusi*. Стрелками обозначены центромерные районы.
Рис. 2. Комар-звонец *Chironomus riparius*.



Заведующая С.А. Федорова, к.б.н.

e-mail: fsveta@bionet.nsc.ru

лаборатория ГЕНЕТИКИ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА

Основные направления научных исследований

- Изучение генетических и молекулярных механизмов пролиферации клеток зародышевого и соматического пути.
- Развитие и оптимизация систем визуализации клеточных структур в процессах деления, дифференцировки и морфогенеза.

Основное направление работ лаборатории – изучение деления половых и соматических клеток. Для этого в подразделении реализуются 2 основных подхода: анализ клеточного деления и морфогенеза у мутантов, как полученных в различных скринингах, так и несущих индуцируемые генетические конструкции. Такими конструкциями могут быть целенаправленно измененные домены изучаемых белков, их укороченные формы или RNAi-конструкции, подавляющие экспрессию изучаемых генов. Вторым подходом является скрининг генов при помощи флюоресцентной белковой ловушки FP-tag. Создание подобной коллекции линий позволяет визуализировать клеточные структуры, не используя антитела и, следовательно, позволяет отслеживать динамику субклеточных структур в живой клетке в реальном времени, что представляет интерес даже в случае если встройка белковой ловушки произойдет в уже известные гены.

Влияние мутаций в гене *peanut* на деления соматических и генеративных клеток *Drosophila melanogaster*

Септины – это семейство белков, впервые найденное у дрожжей *S. cerevisiae* и известное в настоящее время для большинства животных и грибов. Как правило, септины локализуются в области клеточной перетяжки в конце клеточного деления и необходимы для цитокинеза. У дрозофилы известно 5 представителей данного семейства, первым из которых был открыт септин, кодируемый геном *peanut* (*pnut*).

Методами световой и флюоресцентной микроскопии нами было исследовано влияние мутаций в гене *pnut* на деления соматических и генеративных клеток дрозофилы. Показано, что продукт данного гена имеет разные функции в соматических и генеративных тканях: в соматических клетках мутации

в гене *pnut* приводят к аномалиям плоидности, вызванным не только нарушением цитокинеза, но и дефектами в сегрегации хромосом (нерасхождением центросом, нарушением прикрепления хромосом к веретену и образованием хромосомных мостов). Анализ делений половых клеток в яичниках и семенниках мутантов показал, что как в предмейотических, так и мейотических делениях генеративных клеток цитокинез у мутантов не нарушен.

Роль супрессора опухолей *Hyd* в клетках зародышевого пути *D. melanogaster*

Ген дрозофилы *hyd* является ортологом супрессора опухоли млекопитающих EDD и участвует в регуляции пролиферативной активности клеток. Утрата функции гена *hyd* у дрозофилы вызывает гиперплазию имажинальных дисков и приводит к стерильности самцов и самок.

Цитологический анализ показал, что мутация по гену *hyd* имеет множественные мишени в сперматогенезе, затрагивая хромосомный, цитоплазматический и центросомный циклы. Но при этом не происходит избыточной пролиферации и разрастания генеративной ткани. Напротив, в генеративной ткани самок ген проявляет функцию супрессора опухолевого роста, нарушения которой вызывают чрезмерное число клеточных делений (рис. 1).

Скрининг коллекции GFP-tag инсерций

В рамках совместного российско-французского проекта EONET лаборатории была предоставлена коллекция линий дрозофил, име-

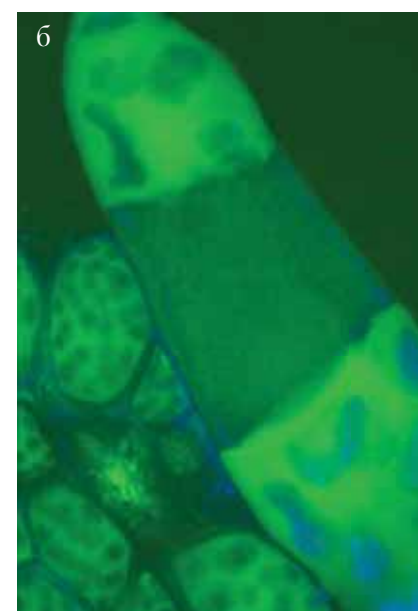
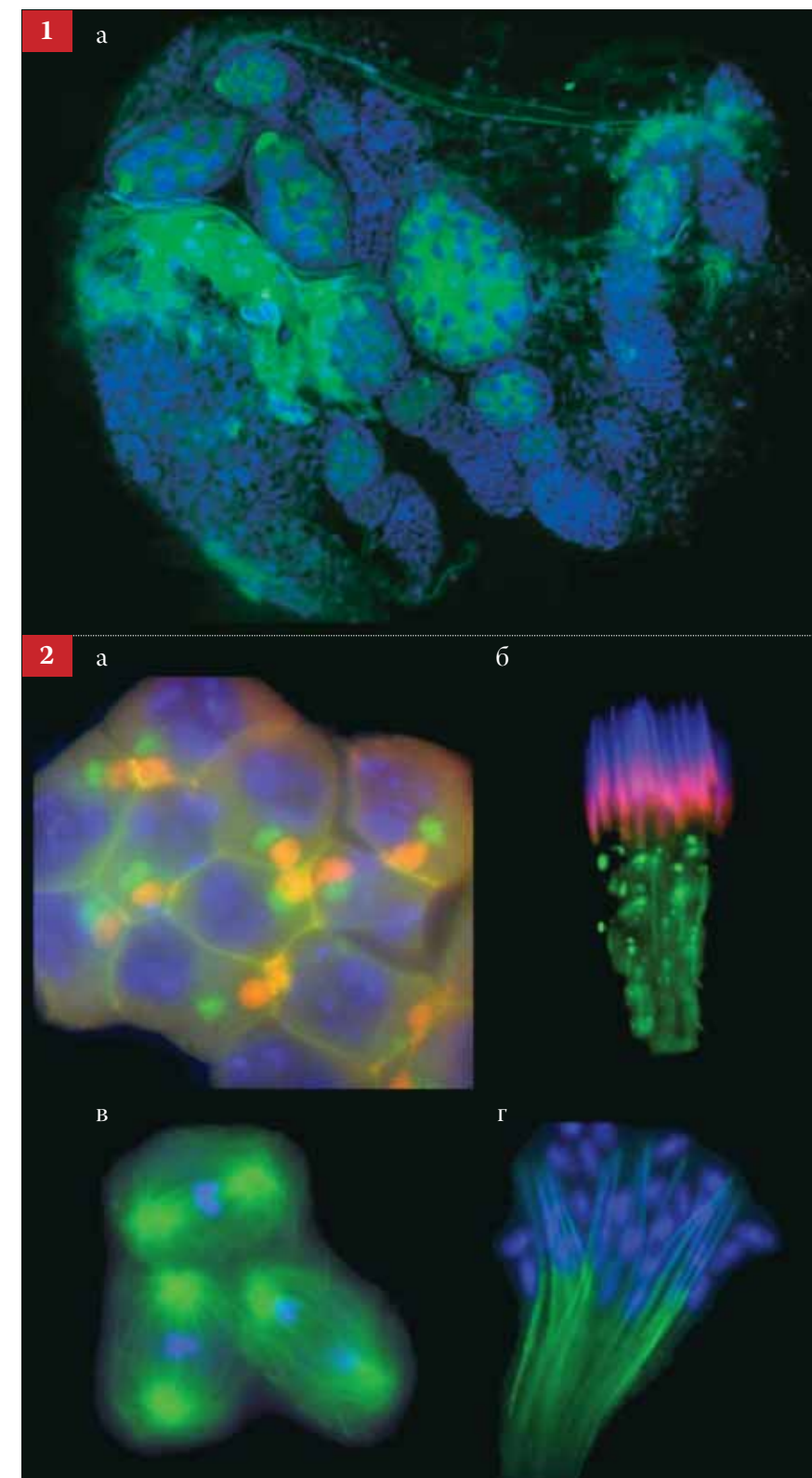


Рис. 1. Нарушения оогенеза мутантов по опухолю-супрессору *hyd*.
а – избыточная пролиферация клеток зародышевого пути в яйцевой камере (в норме должно быть 15 трофоцитов и 1 ооцит). Синий – хроматин, окрашенный DAPI, зеленый – GFP-цитоплазма половых клеток (ооцит имеет самую яркую окраску);
б – аномальное обволакивание цисты фолликулярными клетками, приведшее к нарушению полярности яйцевой камеры. Синий – хроматин, окрашенный DAPI, зеленый – цитоплазма трофоцитов.

Рис. 2. а, б – локализация GFP-гибридной казеин-киназы-γ I, кодируемой геном *gilgamesh* (*gish*), в сперматогенезе *D. melanogaster*.
а – стадия полярных сперматоцитов, GFP-Gish локализуется вблизи разветвлений фузома; б – стадия завершения элонгации сперматид: GFP-Gish сходит с ядер в составе глобулярно-тубулярных структур. Синий – хроматин, окрашенный DAPI, зеленый – GFP-Gish, красный – актиновые конусы индивидуализационного комплекса, окрашенные TRITC-меченным фаллоидином; в – веретено деления на стадии метафазы-анафазы 1 деления мейоза в сперматогенезе дрозофилы; г – нарушение конденсации ядер сперматозоидов у гомозигот по мутации *pAbp¹⁰⁹⁷⁰*. У мутантов на стадии завершения элонгации сперматид можно наблюдать как нормальные палочковидные, так и аномальные овальные ядра. Синий – хроматин, окрашенный DAPI, зеленый – микротрубочки веретена, окрашенные антителами против α-тубулина.

ющих инсерцию *gfp*-кодирующей последовательности (в качестве искусственного экзона) в гены дикого типа. Был проведен цитологический анализ внутриклеточной локализации GFP-гибридных белков в сперматогенезе и оогенезе дрозофилы. С помощью GFP-гибридных мРНК-связывающих белков была выявлена пространственно-временная организация синтетических процессов в сперматогенезе дрозофилы, при помощи гибридной

формы белка дисульфид изомеразы исследована динамика и реорганизация эндоплазматического ретикула. Выявлено, что казеин-киназа-γ I, кодируемая геном *gilgamesh* (*gish*), кроме известной ранее функции дифференцировки глиальных клеток, экспрессируется также в сперматогенезе и участвует в метаболизме мембран – везикулярных телец, фузома и индивидуализационного комплекса (рис. 2).



Заведующий С.М. Закиан,
д.б.н., профессор
e-mail: zakian@bionet.nsc.ru

лаборатория

ЭПИГЕНЕТИКИ РАЗВИТИЯ

Основные направления научных исследований

- Механизмы процесса инактивации X-хромосомы у самок млекопитающих.
- Эмбриональные и региональные стволовые клетки.
- Репрограммирование дифференцированных соматических клеток к плюрипотентному состоянию.

Получены линии клеток полевки *Microtus ros-siaemeridionalis*, подобные трофобластным стволовым (ТС) клеткам мыши. Проведен уникальный сравнительный анализ ТС-клеток полевки и мыши, показавший их сходство по характеру роста, экспрессии молекулярно-генетических маркеров, а также типу дифференцированных производных. Однако в отличие от ТС-клеток мыши для выделения и продолжительного культивирования ТС-клеток полевки не требуется фактор FGF4. Этот факт указывает на возможность существования альтернативных сигнальных путей, обеспечивающих поддержание стволовых свойств ТС-клеток.

Обнаружено сходство по составу и распределению модификаций хроматина между X-хромосомой в процессе мейотической инактивации в составе полового тельца в сперматогенезе и неактивной X-хромосомой, наследуемой от отца, на ранних этапах импринтированной инактивации в ТС-клетках (рис. 1, а, б). Таким образом, можно предположить, что модификации хроматина, установленные в процессе мейотической инактивации, могут служить основой для импринтированной инактивации отцовской X-хромосомы в раннем развитии.

Показано, что во время случайной инактивации X-хромосомы и на поздних стадиях процесса импринтированной инактивации транскрипционное молчание неактивной X-хромосомы обеспечивается двумя типами факультативного гетерохроматина. Первый обогащен триметилированным H3K27 и убиквитинированным H2A и солокализуется с бэндингом Xist РНК, тогда как второй тип гетерохроматина связан с триметилированием H3K9 и гетерохроматиновым

белком HP1. Установлено, что первый тип факультативного гетерохроматина реплицируется в средней S-фазе, тогда как второй тип гетерохроматина реплицируется в поздней S-фазе совместно с конститутивным гетерохроматином.

Впервые установлено, что неактивная X-хромосома эволюционно древних млекопитающих – сумчатых опоссумов *M. domestica* – обогащена триметилированным H3K9, который у сумчатых и плацентарных млекопитающих вовлечен в процесс мейотической инактивации половых хромосом – предполагаемый предковый механизм инактивации X-хромосомы.

Проведены эксперименты по получению индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) из фибробластов кожи и нейральных стволовых клеток плода человека (ФНСК) (рис. 2). Впервые удалось получить ИПСК с помощью сверхэкспрессии одного гена – *Oct4* – без интеграции плазмидного вектора в геном клетки. Полученные ИПСК обладают всеми свойствами плюрипотентных клеток и могут дифференцироваться в производные всех трех зародышевых листков (эктодермы, мезодермы и энтодермы), т. е. потенциально могут давать любые клетки, из которых состоит тело взрослого человека. Успешно проведены эксперименты по направленной дифференцировке полученных ИПСК в хондробласты (клетки хрящевой ткани), а также получены фрагменты хрящевой ткани *in vitro*. Поражения

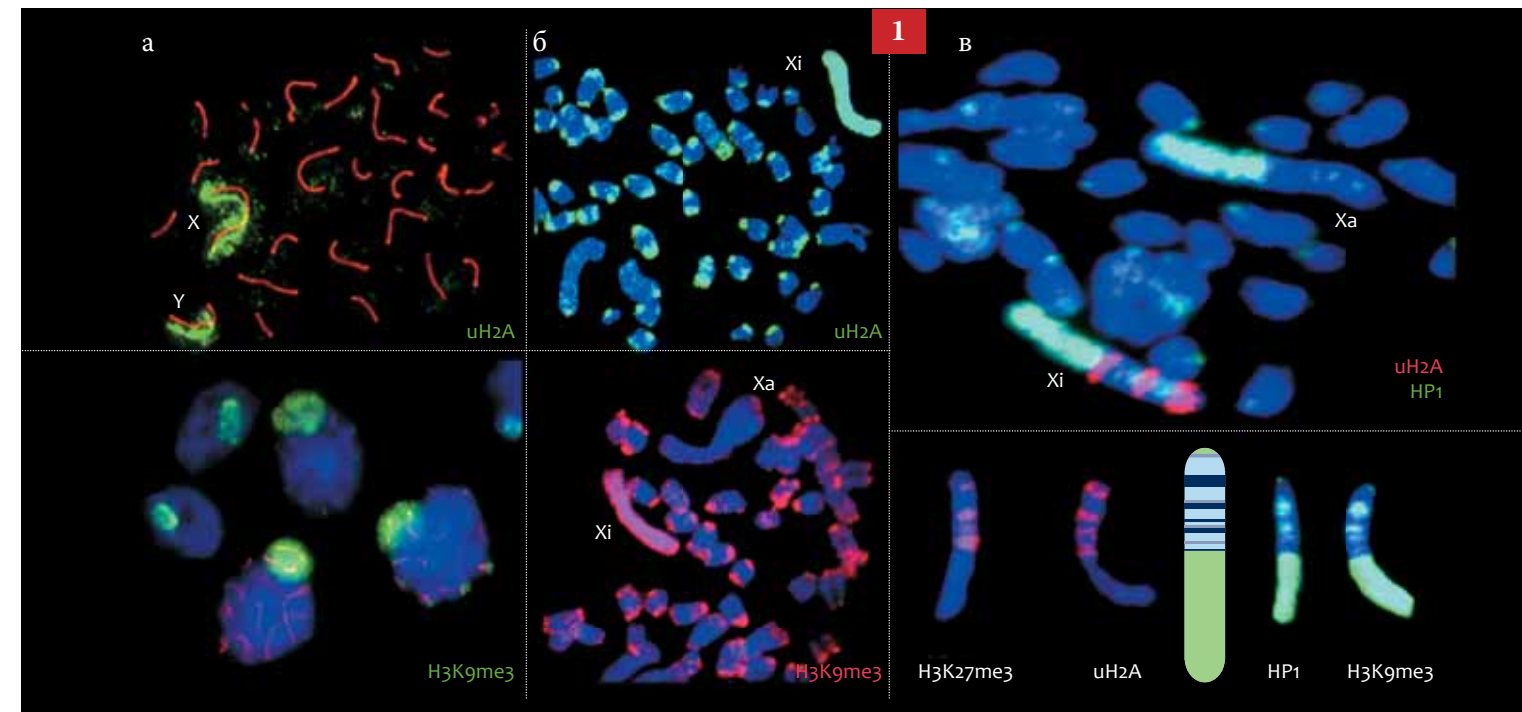
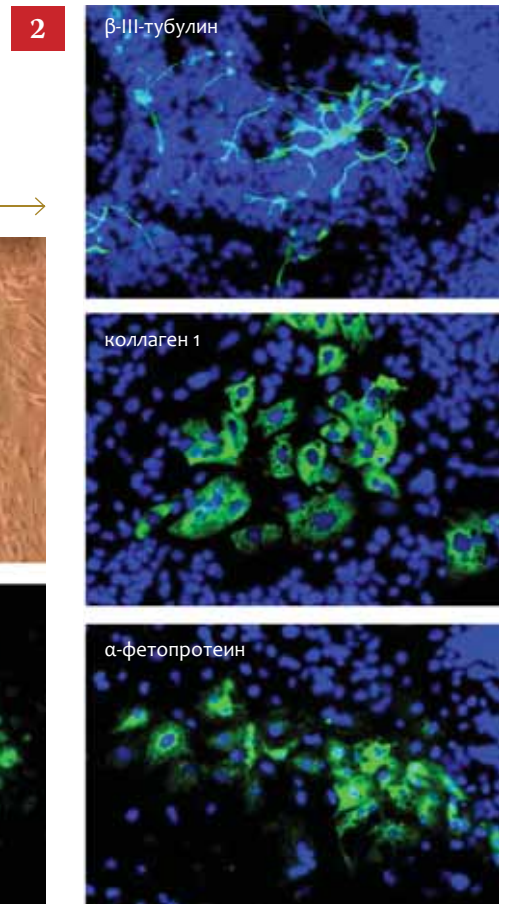
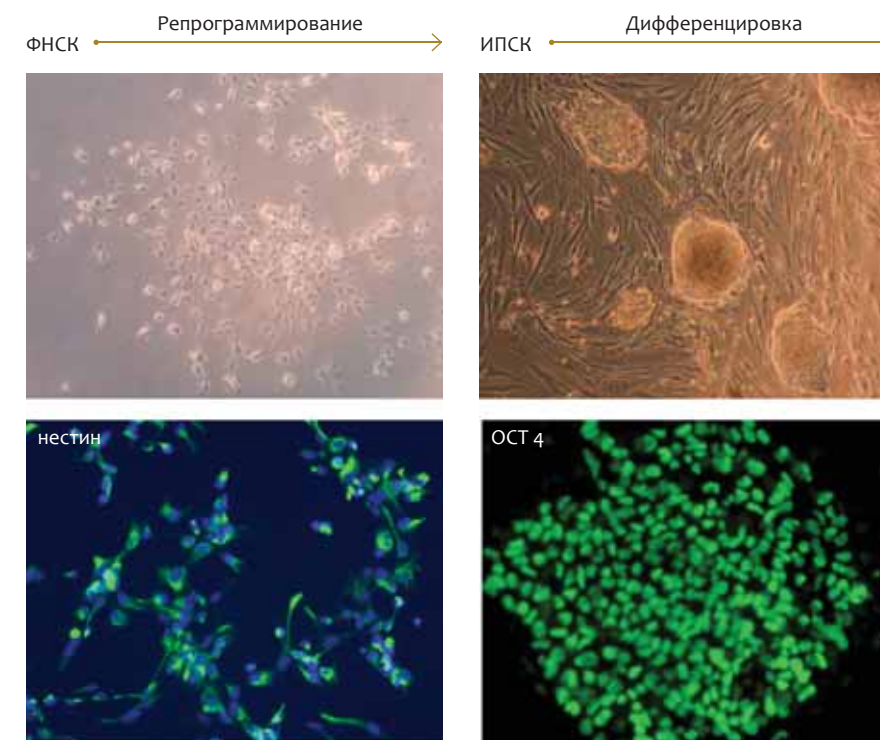


Рис. 1. Модификации хроматина X-хромосомы полевки в мейотической (а), импринтированной (б) и случайной инактивации (в). Модификации хроматина – убиквитинирование гистона H2A (uH2A), триметилирование гистона H3 по лизину K9 (H3K9me3), гетерохроматин-специфический белок (HP1). Xa – активная, Xi – неактивная X-хромосома.

Рис. 2. Получение индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) из фетальных нейральных стволовых клеток (ФНСК) и последующая дифференцировка ИПСК в производные трех зародышевых листков.

хрящевой ткани, связанные с возрастными изменениями и травмами, являются одними из наиболее распространенных болезней опорно-двигательного аппарата. Полученные клетки могут быть удобной моделью для исследования заболеваний на клеточном и молекулярном уровнях, а также потенциально могут быть источником материала для заместительной клеточной терапии.





Заведующий С.С. Богачев, д.б.н.
e-mail: labmolbiol@mail.ru,
gorbi@bionet.nsc.ru

лаборатория
МОЛЕКУЛЯРНОЙ
БИОЛОГИИ КЛЕТКИ

Основные направления научных исследований

- Изучение различных аспектов действия экзогенной ДНК на организм экспериментальных животных и человека в целях выявления механизмов противоопухолевой активности экзогенной ДНК.
- Исследование действия препарата двуцепочечной ДНК на гемопоэтические стволовые клетки и антигенпрезентирующие дендритные клетки.

Показано, что синергичное действие кросслинкирующего цитостатика циклофосфана и препарата двуцепочечной ДНК приводит к апоптозу основной массы клеток костного мозга включая гемопоэтические стволовые клетки крови. Такое действие нарушает функционирование основополагающих систем организма экспериментального животного, что приводит к его болезни и гибели (рис. 1).

Показано, что действие препарата экзогенной ДНК на дендритные клетки приводит к их активации и формированию противоракового адаптивного иммунитета (рис. 2).

Мышам СВА внутримышечно прививали по 300 тыс. клеток опухоли. На 4-е сутки после этого мышам вводили по 6 мг/кг доксорубицина внутривенно и по 200 мг/кг циклофосфана внутривенно. 200 мкг ДНК человека вводили внутривенно через 30 мин и на 2-, 3- и 5-е сутки после введения циклофосфана.

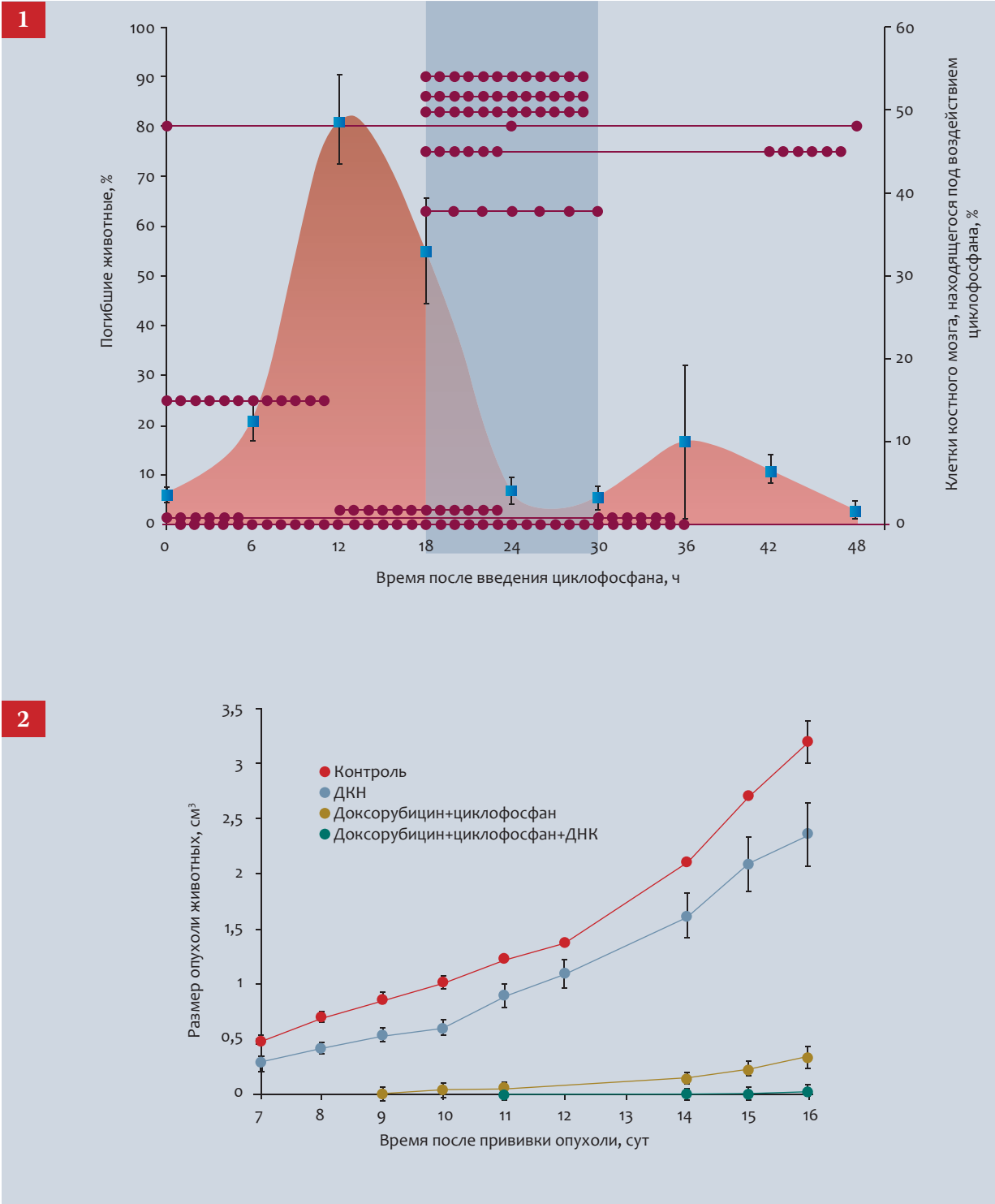


Рис. 1. Сопоставление графиков гибели мышей и количества двуцепочечных разрывов после введения циклофосфана. Горизонтальные сплошные отрезки отображают процент погибших животных при различных схемах введения экзогенной ДНК после циклофосфана; точками на отрезках обозначено введение мышам ДНК, нулевая точка – момент введения циклофосфана. Кривая прерывистая линия – процент клеток костного мозга, находящихся под воздействием циклофосфана, в которых количество двуцепочечных разрывов выше фона (> 10 на клетку) – среднего количества двуцепочечных разрывов на клетку в контроле. Область, выделенная голубым, обозначает временные рамки, при которых инъекции экзогенной ДНК на фоне обработки циклофосфаном приводят к максимальной гибели животных (Likhacheva *et al.*, 2007).

Рис. 2. Динамика роста опухоли Кребс-2.



Заведующий Н.Б. Рубцов,
д.б.н., профессор
e-mail: rubt@bionet.nsc.ru

лаборатория МОРФОЛОГИИ И ФУНКЦИИ КЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР

Основные направления научных исследований

- Изучение пространственной и молекулярной организации клеточных структур:
 - выяснение принципов молекулярной и пространственной организации хромосом эукариот;
 - анализ формирования и ультраструктурной организации клеточных структур;
 - разработка новых методов микроскопического и молекулярно-генетического анализа.
- Обеспечение работы Центра коллективного пользования микроскопического анализа биологических объектов СО РАН (создан приказом директора ИЦиГ СО РАН в соответствии с Постановлением Президиума СО РАН № 387 от 01.11.2001).
- Обеспечение работы Центра коллективного пользования ИЦиГ СО РАН по проточной цитофлюорометрии (создан приказом директора Института № 33-А от 3 июля 2006 г.).

В ходе изучения принципов молекулярной и пространственной организации хромосом эукариот проведено изучение распределения повторенных последовательностей ДНК в хромосомах млекопитающих, насекомых, плоских червей. В работе широко применяется технология создания микродиссекционных ДНК-библиотек индивидуальных хромосом и хромосомных районов с последующим использованием их в экспериментах по FISH, а также клонированию и секвенированию их ДНК. В результате проведенных исследований выявлены закономерности локализации и эволюции повторенных последовательностей, характерных для прицентромерных, теломерных районов хромосом, В-хромосом, а также повторенных последовательностей, характерных для эухроматиновых районов хромосом. Проведен анализ дивергенции ДНК прицентромерных районов хромосом грызунов в процессе видообразования и дальнейшей эволюции.

На рис. 1–3 приведены результаты FISH различных ДНК-проб с метафазными хромосомами изученных видов.

При исследовании метафазных и интерфазных хромосом эмбриональных стволовых клеток человека получены результаты, указывающие на влияние хромосомных перестроек на положение хромосом в интерфазном ядре (рис. 4, 5).

Изучение ультраструктурной организации ядерных пор и анализ эволюционных аспектов их формирования проводились на нескольких видах эукариот с использованием просвечивающей и сканирующей электронной микроскопии и меченых моноклональных антител. В результате проведенных исследований предложена схема организации ядерной поры. Проведены исследования ультраструктурной организации интерфазных ядер у ряда видов (рис. 6, 7). Проведен анализ влияния на ультраструктурную организацию клеток присутствия в них симбиотических микроорганизмов (вольбахия в клетках дрозофилы).

В результате разработки новых методов микроскопического и молекулярно-генетического анализа были предложены, опробованы и успешно использованы новые методы диагностики хромосомных патологий человека включая проведение оценки клинического значения сверхчисленных хромосом человека.

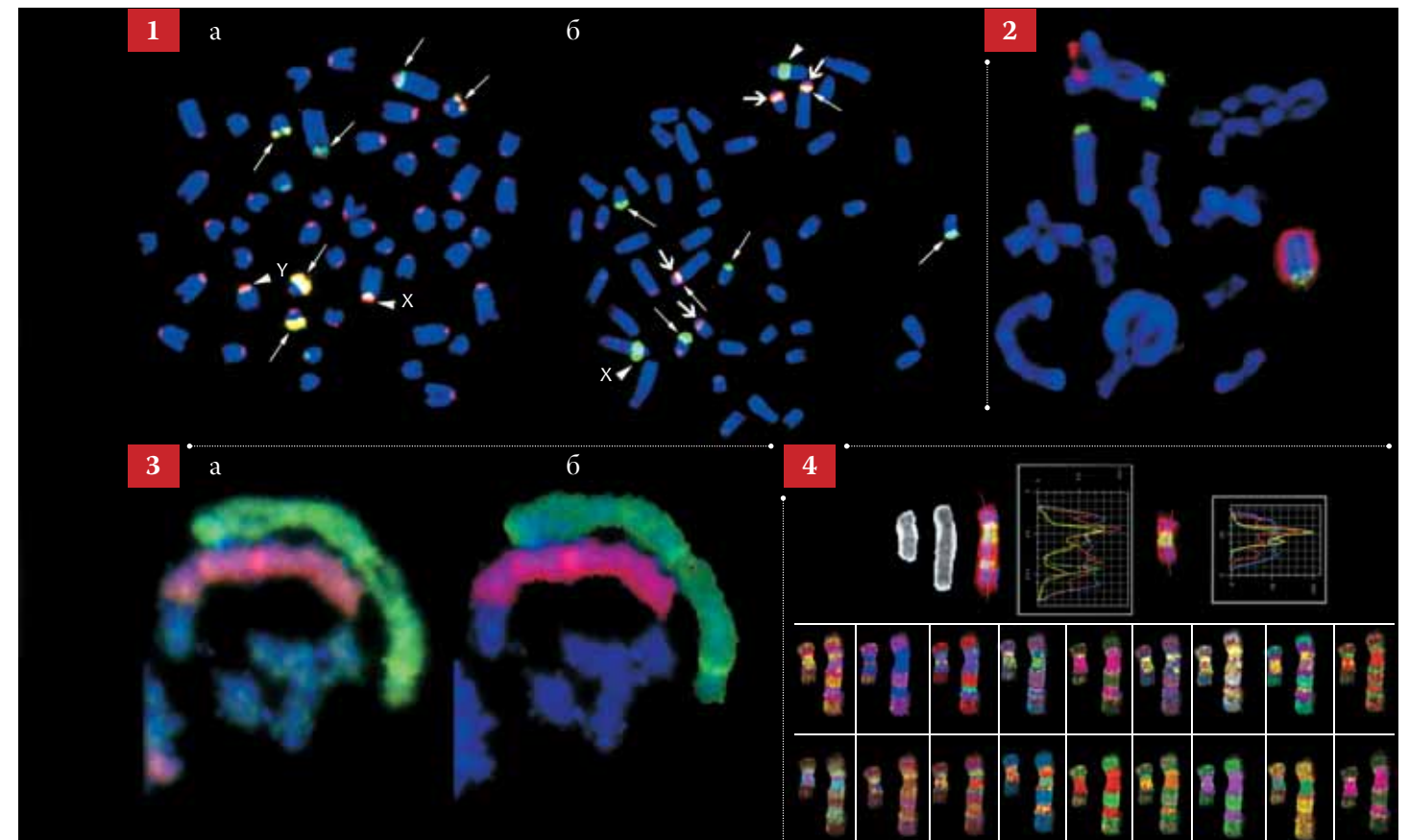


Рис. 1. Многоцветная гетерологичная FISH микродиссекционных ДНК-проб, полученных из прицентромерных районов хромосом, с метафазными хромосомами близкородственных видов мышей.

Рис. 2. Многоцветная FISH клонированных фрагментов ДНК из FISH микродиссекционной ДНК-библиотеки В-хромосомы *Podisma kanoi*.

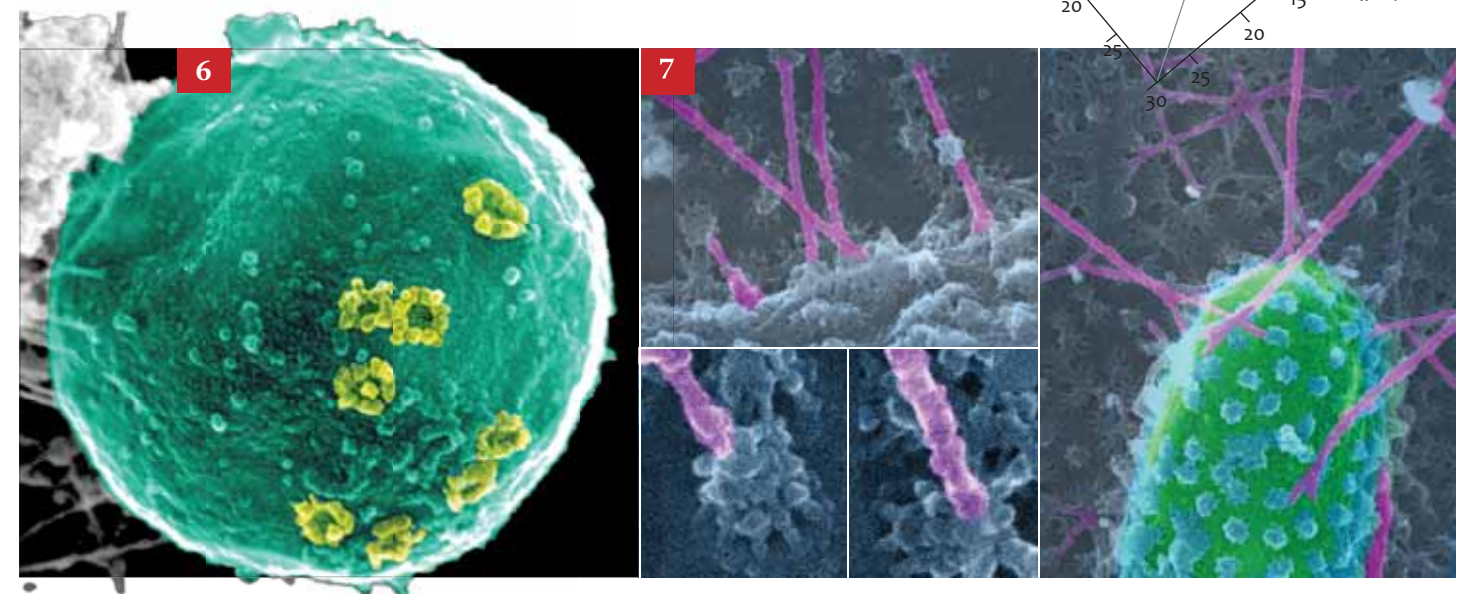
Рис. 3. Хромосомный пэинтинг мейотических хромосом *Metorchis xanthosomus* (Creplin, 1846) (хромосома 1 – зеленый сигнал, хромосома 2 – красный сигнал). а – исходный имидж; б – имидж после программного вычитания сигнала диспергированных повторенных последовательностей.

Рис. 4. Многоцветный бэндинг хромосом 9 и dup(9) из культуры эмбриональных стволовых клеток человека.

Рис. 5. Трехмерная реконструкция интерфазного ядра эмбриональной стволовой клетки человека с выявленными 3D-FISH хромосомами 9 и dup(9). Зеленый сигнал – FISH WCP9, красный сигнал – FISH микродиссекционной ДНК-пробы прицентромерного района хромосомы 9; стрелка указывает на хромосому dup(9).

Рис. 6. Сканирующая электронная микроскопия ядерных пор у дрожжей.

Рис. 7. Сканирующая электронная микроскопия: внутриядерные актин-содержащие филаменты контактируют с ядерными поровыми комплексами.





Заведующий С.Е. Пельтек, к.б.н.
e-mail: peltuk@bionet.nsc.ru

лаборатория МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОТЕХНОЛОГИЙ

Основные направления научных исследований

- Новые методы исследования биообъектов с применением терагерцового излучения.
- Нанотехнологии и нанобиобезопасность.
- Развитие микрофлюидных технологий для научных исследований и прикладных разработок.
- Технология выращивания и переработки нового вида целлюлозосодержащего сырья – мискантуса китайского.
- Научные основы промышленной биотехнологии и получения биотоплива.

Сотрудниками лаборатории совместно с сотрудниками ИЯФ СО РАН и ИХКиГ СО РАН открыто явление мягкой неразрушающей абляции под действием терагерцового излучения (ТГцИ). На основе этого явления разработаны методы перевода биополимеров большой молекулярной массы в газовую фазу; методы определения размеров наночастиц.

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

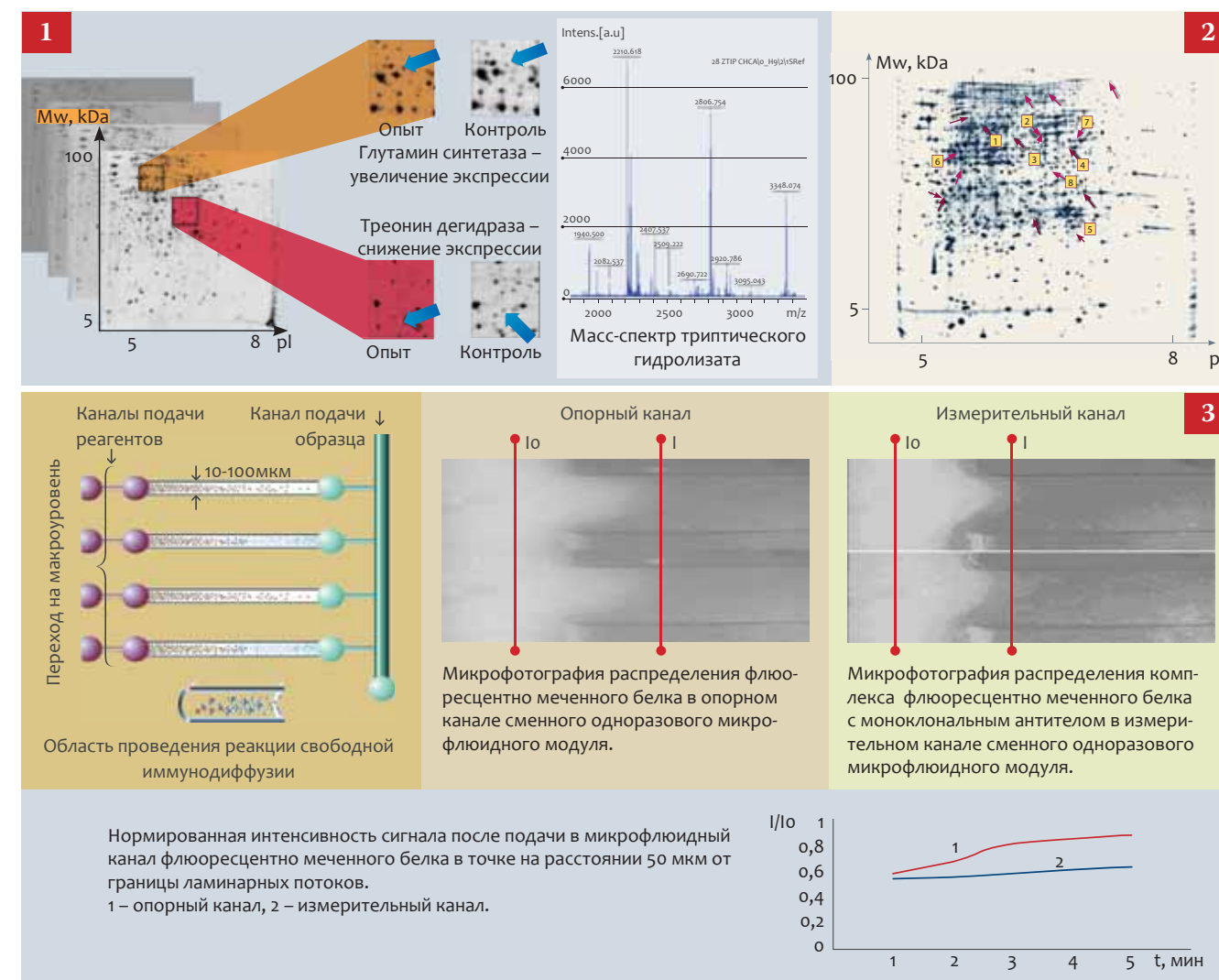
Методами протеомного анализа с последующей масс-спектрометрией были идентифицированы белки, индуцируемые в клетках *E. coli* в ответ на ТГцИ (рис. 1). Биоинформационный анализ промоторных районов генов, кодирующих эти белки, показал наличие сайтов связывания стрессовых транскрипционных факторов OxyR и MarA. Их наличие в промоторах индуцированных ТГцИ генов *E. coli* свидетельствует в пользу развития ответа клеток на ТГцИ по механизмам, сходным со стрессовым ответом.

Разработан комплексный подход предварительной оценки и прогнозирования вероятных последствий контакта наноконпонентов с организмом человека и другими живыми объектами. На основе явления мягкой неразрушающей абляции и атомно-эмисси-

онной спектроскопии охарактеризованы размеры и химический состав наночастиц. Показано, что реакция организма домового мыши при экспозиции наночастицами зависит не только от их химического состава, но и в большей степени от размера. Методами двумерного электрофореза (рис. 2) с последующим масс-спектрометрическим анализом проведена идентификация белков бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), индуцированных экспозицией мыши наночастицами. Анализ протеомных карт БАЛ после развития реакции на наночастицы свидетельствует о том, что в ответ на экспонирование мышей наночастицами таркосила меняется концентрация не только белков воспалительного ответа, но и белков, функционально связанных с индукцией апоптоза и регуляцией клеточного цикла.

В настоящее время в мировой науке происходит технологическая революция, направленная на радикальную миниатюризацию размеров экспериментальных устройств на основе микрофлюидных технологий. В совместных работах с ИЯФ СО РАН изготовлено несколько типов микрофлюидных систем для: проведения реакции свободной иммунодиффузии, позиционирования геносенсоров, создания градиента концентрации растворов. На основе микрофлюидных технологий ведется разработка биоаналитического комплекса нового поколения (рис. 3).

Ведется поиск источников высококачественной целлюлозы многоцелевого использования. В условиях Западной Сибири интродуцирована



дальневосточная популяция мискантуса китайского (*Miscanthus sinensis* Andersson). Показано, что при использовании обычных агротехнологий можно получать 10–15 т сухой биомассы с га в год с содержанием целлюлозы около 40 %. Исследованы условия получения целлюлозы из мискантуса. Работа выполняется в тесном взаимодействии с ИИХЭТ СО РАН и ИК СО РАН.

Совместно с ИК СО РАН создан Межинститутский молодежный сектор промышленной микробиологии. Разрабатываются новые биотехнологические процессы микробальной конверсии отходов производства биодизельного топлива (глицерина) в ценные мономеры для химического синтеза. Выделен штамм *Klebsiella*

pneumoniae, осуществляющий биоконверсию глицерина в 1,3-пропандиол с высоким выходом.

Создана и пополняется коллекция микроорганизмов-экстремофилов. Выделены штаммы микроорганизмов, в том числе и из уникальных природных экосистем (Камчатский вулканический пояс, Байкальская рифтовая зона). Проведен скрининг микробных комплексов из природных местообитаний с экстремальными условиями на наличие целлюлозолитической способности. Получены активные накопительные культуры, устойчиво работающие в течение продолжительного времени и способные разлагать широкий спектр целлюлозосодержащих субстратов.

Разработан экспресс-метод скрининга, идентификации и классификации микроводорослей с использованием MALDI-TOF масс-спектрометрии. Сконструирован фотобиореактор для наработки биомассы микроводорослей, обладающих высокими скоростями роста и повышенным содержанием липидов. Разрабатывается технология получения биотоплив третьего поколения. Оптимизированы условия культивирования *Botryococcus braunii* и *Chlorella vulgaris* Beijerinck.

Рис. 1. Высоковоспроизводимый двумерный электрофорез белков *E. coli*. Разделение белков проводили в двух направлениях согласно их изоэлектрическим точкам (pI) и молекулярным массам (Mw). Стрелками отмечены фракции белка, изменившие свою экспрессию в результате воздействия терагерцового излучения. Идентификация белков проведена методом MALDI-TOF масс-спектрометрии (UltraflexIII, Bruker).

Рис. 2. Двумерная электрофореграмма суммарного белка бронхоальвеолярного лаважа мыши линии C 57/Black после интраназального ввода наночастиц SiO₂. Стрелками указаны индуцированные белки.

Рис. 3. Создание биокаталитического комплекса нового поколения.



Заведующая К.Н. Сорокина, к.б.н.
e-mail: sorokina@bionet.nsc.ru

межинститутский молодежный сектор
**ПРОМЫШЛЕННОЙ
МИКРОБИОЛОГИИ**
(ИЦиГ СО РАН – ИК СО РАН)

Основные направления научных исследований

- Разработка продуцентов ферментов, физиологически активных веществ и вторичных метаболитов.
- Разработка научно-технологических основ процессов производства полупродуктов и мономеров для основного и тонкого органического синтеза.
- Разработка процессов получения сырья для производства биотоплив третьего поколения.
- Оптимизация и масштабирование процессов культивирования микроорганизмов.

Сектор промышленной микробиологии создан в 2008 г. на базе Института цитологии и генетики СО РАН и Института катализа им. Г.К. Борескова СО РАН с целью проведения междисциплинарных фундаментальных и прикладных исследований в области биоинженерии микроорганизмов и разработки технологических процессов для создания методов получения крупнотоннажной биотехнологической продукции.

Сектор является структурным подразделением лаборатории молекулярных биотехнологий ИЦиГ СО РАН (зав. к.б.н. С.Е. Пельтек) и работает совместно с отделом нетрадиционных каталитических процессов ИК СО РАН (зав. акад. В.Н. Пармон).

В секторе ведутся фундаментальные исследования в области разработки методов генетической инженерии микроорганизмов для создания продуцентов

ферментов (липаз, целлюлаз и др.), применяемых в промышленных процессах, направленных на трансформацию субстрата в целевые продукты высокой потребительской стоимости. Также проводятся исследования по метаболической инженерии микроорганизмов-продуцентов мономеров для основного и тонкого химического синтеза. В том числе разрабатывается новый экологически безопасный и эффективный способ переработки глицерина с применением микробиологического синтеза, который позволит удешевить производство 1,3-пропандиола, используемого в синтезе новых высококачественных полимеров, производстве волокон, композитных материалов и биорастворителей (рис.).

Совместно с ИК СО РАН осуществляется разработка технологического процесса получения биотоплив третьего поколения из биомассы микроводорослей. Осуществляется поиск перспективных штаммов микроводорослей и разработка технологических основ культивирования микроводорослей в пилотных фотобиореакторах.

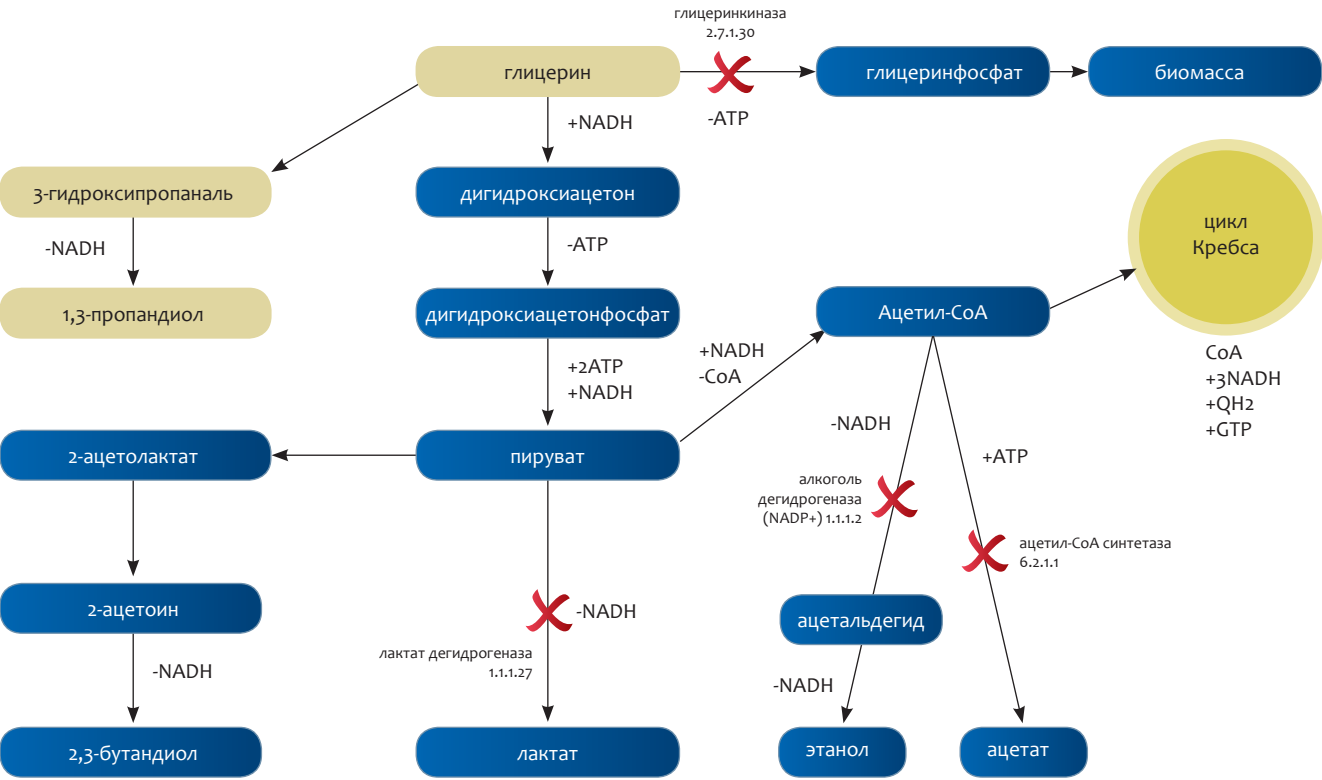


Рис. Инактивация ключевых генов, ответственных за синтез побочных продуктов ферментации.



Заведующая Л.П. Осипова,

К.б.н., с.н.с.

e-mail ludos@bionet.nsc.ru, ludos84@mail.ru

лаборатория ПОПУЛЯЦИОННОЙ ЭТНОГЕНЕТИКИ

Основные направления научных исследований

- Популяционно-генетические исследования коренных этносов Сибири и выявление генетико-демографической изменчивости в условиях социальных и техногенных трансформаций; оценка роли факторов микроэволюции в поддержании популяционной структуры.
- Молекулярно-генетические исследования локусов Y-хромосомы, митохондриальной ДНК, аутосомальных локусов для уточнения этапов этногенеза и этнической истории коренных жителей Сибири, а также их участия в заселении Америки.
- Биомедицинские исследования генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков, вовлеченных в процессы канцерогенеза; генов серотониновой системы мозга, участвующей в регуляции поведения; молекулярных вариантов гепатитов В и С и других функционально значимых генных систем.
- Пополнение и поддержание Банка образцов крови и ДНК.
- Создание генетико-демографических, биохимических и молекулярно-генетических баз данных, необходимых для продолжения исследований в области генетики человека.

Создана уникальная коллекция образцов ДНК 17 этнических групп Сибири (нганасан и долган Таймыра, эвенков, кетов, северных селькупов, тундровых и лесных ненцев, хантов, коми, якутов, западных и восточных бурят, северных и южных алтайцев и казахов Алтая, телеутов, а также русских Сибири и староверов). Образцы ДНК этих этносов широко используются для молекулярно-генетических исследований.

Совместно с международным коллективом европейских ученых (Nature. 2010. 463(7282): 757-62) (рис.) проведено уникальное исследование, основанное на изучении 79 % структуры генома ДНК из волос древнего жителя Гренландии (Саккак) возрастом около 4000 лет в сравнении с представителями 35 популяций, в числе которых были нганасаны, долганы, эвенки, кеты, селькупы, изученные в нашей лаборатории. Было продемонстрировано близкое родство между Саккак и образцами арктических популяций

Старого Света – нганасан, коряков и чукчей. Показано, что предки человека Саккак пересекли Берингов пролив независимо от предков современных аборигенов Америки и инуитов. При использовании известных SNPs были также установлены взаимосвязи между функциональными аллелями и их проявлениями на фенотипическом уровне для этого древнего человека. В частности, реконструированы группа крови A1 (II) и положительный (D) резус-фактор. Комбинация 4 SNPs в локусе HERC2-OCA2 выявила наличие у него карего цвета глаз. А SNPs на хромосомах 2, 5, 15, 16 и X указали на то, что человек Саккак имел смуглый оттенок кожи, темные густые волосы, повышенный риск облысения, наличие «монголоидных» лопатовидных резцов и «монголоидного» сухого типа ушной серы. На основании изучения других 12 функциональных SNPs, связанных с метаболизмом и индексом массы тела, сделано заключение, что человек Саккак был адаптирован к холодному климату. Важным выводом явилось то, что геномные данные могут быть использованы для определения фенотипических черт людей прошедших эпох, оставивших мало морфологической информации.

В 2006–2009 гг. нами было выполнено исследование совместно с зарубежными учеными (Biol. Lett. 2007. 3(2): 218–223. Mol. Biol. Evol. 2009. V. 26. N 5. P. 995–1016) по проверке южносибирской гипотезы о заселении Американского континента с использованием микросателлитного

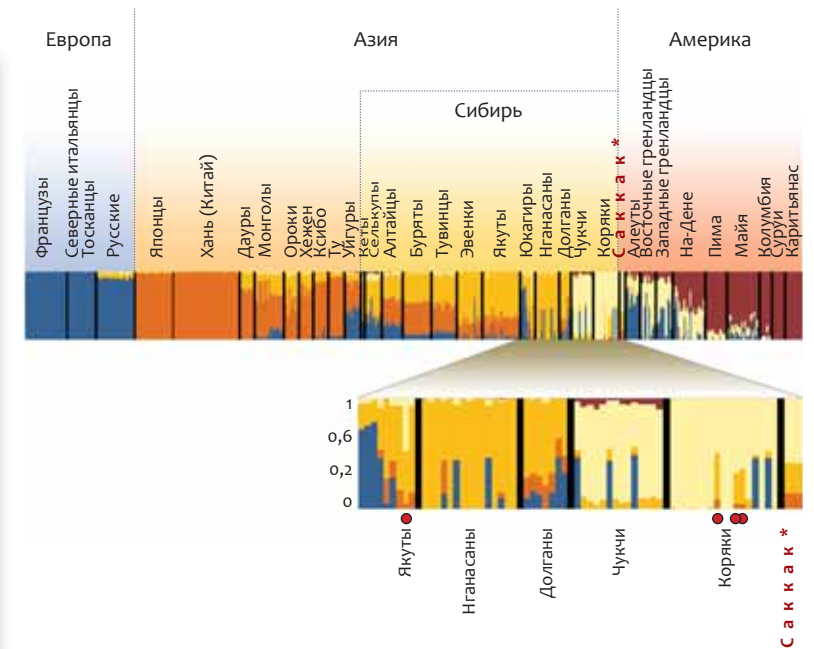


Рис. Популяционно-генетический анализ доли предковых генов, основанный на Illumina-гепотипировании 492 образцов из 12 популяций Сибири, 13 популяций индейцев Америки и 10 евразийских популяций в сравнении с образцом Саккак.*

полиморфизма. Проблема о количестве миграций человека в Америку до сих пор не решена, хотя еще в 1986 г. выдвинута гипотеза о трехволновой миграции, основывающаяся на существовании в Америке 3 языковых групп: на-дене, алеут-эскимосской и америндской. Для проверки южносибирской гипотезы был выбран этноспецифичный аллель – микросателлит локуса D9S1120 (q плечо 9-й хромосомы), с высокой частотой встречающийся в популяциях коренных американцев и в Западной Берингии, но отсутствующий в других мировых популяциях. Этот аллель состоит из 9 тетраплектидных повторов (9RA) и является самым маленьким (275 п.н.) в локусе D9S1120. Нами были включены в общее исследование 3 выборки из популяций коренных жителей Республики Алтай (северные и южные алтайцы, казахи Алтая), поскольку ранее у них были найдены маркеры мтДНК и Y-хромосомы, свойственные и коренным жителям Америки. На основании выполненной работы было показано, что: а) 9RA аллель локуса D9S1120 отсутствует во всех предполагаемых исходных популяциях Азии, в том числе у алтайцев и казахов Алтая, в то время как во всех популяциях Северной и Южной Америки он найден со средней частотой 35,4 %; б) распределение 9RA соответствует гипотезе о том, что Америка была заселена одной предковой популяцией, в которой 9RA был представлен и от которой произошли все современные популяции американских индейцев; в) изучение гаплотипного фона локуса D9S1120 подтвердило, что все копии 9RA аллеля в выборках получены из одной предковой мутации, и популяционное распределение этого аллеля не было обусловлено позитивной селекцией среди америндов; г) наличие 12-повторных аллелей D9S1120 в Южной Азии служит основанием для дальнейшего исследования гипотезы о том, что популя-

ция, в которой 9RA аллель локуса D9S1120 возник, была изолирована от предков современных монголоидов перед экспансией в Америку.

Исследование мутационного процесса в современных популяциях человека является важной задачей при все повышающейся техногенной нагрузке. Для изучения этой проблемы нами выбраны микросателлиты (STR) в нерекombинирующей части Y-хромосомы, которые широко используются для популяционно-генетических исследований и в судебной медицине. Поскольку в настоящее время степень этнических различий в скоростях мутаций остается неясной, в пилотный проект была выбрана популяция тундровых ненцев Самбурга и использованы наработанные в процессе мониторинга генеалогические данные и банк ДНК. Было отобрано 50 семей, включающих 330 мужчин, с родословными глубиной до 6 поколений. Всего было изучено 34 Y-STR локуса: DYS 19, DYS 385A и др. При анализе результатов были обнаружены 4 % детей «вне Y-линий» (внебрачных). Мутации Y-STR-локусов были обнаружены в 55 % Y-линий выборки. Из 34 локусов вовлеченными в мутационный процесс оказались 21, т. е. около 60 %, что демонстрирует высокую пригодность выбранных маркеров для изучения мутационной компоненты в ряду факторов микроэволюции, действующих в популяциях человека (Osipova *et al.*, 2010).

У представителей самодийских этносов (селькупов, лесных ненцев, нганасан) впервые проведено исследование полиморфизма генов системы биотрансформации ксенобиотиков *GSTM1*, *GSTT1* и *CYP2D6*. На основании частот полиморфных вариантов этих генов выдвинуто предположение о пониженном риске онкологических заболеваний у коренных самодийских этносов по сравнению с русскими Сибири.



Заведующий Д.А. Афонников,
к.б.н., доцент
e-mail: ada@bionet.nsc.ru

лаборатория ЭВОЛЮЦИОННОЙ БИОИНФОРМАТИКИ И ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ ГЕНЕТИКИ

Основные направления научных исследований

- Теоретическая генетика.
- Эволюционная биоинформатика.
- Компьютерная системная биология.
- Компьютерная геномика.

При помощи программ анализа регуляторных сайтов ДНК (SiteGA, SITECON) проведено исследование свойств и встречаемости в геномах сайтов ряда транскрипционных факторов. Выявлены потенциальные сайты связывания факторов SREBP в регуляторных районах генов генных сетей липидного метаболизма и клеточного цикла позвоночных. Выявлены наиболее вероятные гены-мишени диоксин-активируемого транскрипционного комплекса. Выявлены неоднородность распределения сайтов формирования нуклеосом в геномной ДНК, а также особенности нуклеосомной упаковки в 3'- и 5'-фланкирующих районах генов (недостаток сайтов с низкой способностью к формированию нуклеосомы). Обнаружено, что SNP в 16 интроне гена *RYR1* свиньи (18359T>C и 18361A>G) нарушают сайты связывания транскрипционных факторов CTCF и AP-1, экспрессирующихся в мышцах, что может изменить уровень экспрессии гена *RYR1* в данной ткани.

На основе анализа микрочиповых данных статистически доказана связь между наличием потенциальных сайтов связывания транскрипционных факторов FoxA в промоторном районе гена и изменением его экспрессии в результате воздействия на крыс азокрасителей: гепатоканцерогенного (3'-MeДАБ) и неканцерогенного (ОАТ).

Выведено точное уравнение равновесной константы диссоциации ТВР белка с ТАТА-боксом промоторов эукариот и показан значимый вклад оценок этого уравнения для уровня ТВР/ТАТА-сродства в норму реакции генов микроРНК арабидопсиса. Предложен метод классификации промоторов генов-паралогов на «ТАТА-содержащие/ТАТА-несодержащие» и с его помощью впервые предсказано наличие/отсутствие ТАТА-боксов для 45 генов для факторов ARF ответа на ауксин арабидопсиса и риса.

Анализ регуляторных районов генома вируса ВИЧ-1 позволил спрогнозировать проявление различных его генотипов в ходе инфекции.

С помощью разработанного алгоритма неметрического многомерного шкалирования исследованы данные по экспрессии 23068 генов лимфобластоидных клеточных линий, взятых у 167 представителей трех поколений 15 семей. Обнаружено четыре наследуемых фактора изменчивости экспрессии генов.

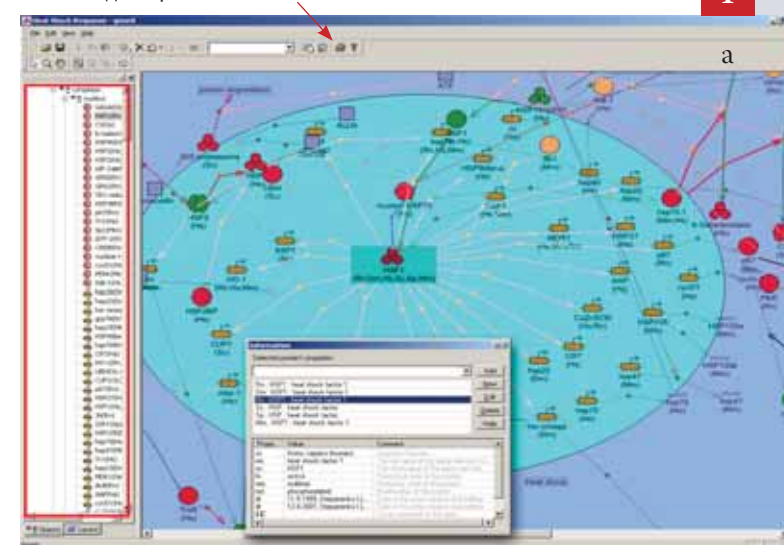
С помощью программы GeneNet (рис. 1, а) в генной сети адипоцита выявлены положительные и отрицательные регуляторные контуры, обеспечивающие ответ адипоцитов на инсулин. Пример одной из реконструированных генных сетей – сеть регуляции биосинтеза холестерина – рис. 1, б.

Разработана математическая модель развития меристемы побега, объясняющая механизм локализации организационного центра.

Разработана система поддержки конвейерной обработки молекулярно-биологических данных BioinfoWF и на ее основе реализован пакет программ анализа молекулярной эволюции SAMEM (<http://pixie.bionet.nsc.ru/samem/>). С его помощью показано, что особенности эволюции циклинов у растений и грибов отражают их функциональную роль как глобальных регуляторов дифференцировки клеток.

Компьютерный анализ одиночных нуклеотидных замен, приводящих к устойчивости к антибиотикам моркови, табака, кишечной палочки и других организмов, показал, что эти мутации происходят в сайте связывания спектиномицина в районе

Редактирование свойств компонент



спирали h34 16S РНК. На основании расчетов изменения стабильности вторичной структуры оценена свободная энергия связывания спектиномицина с 16S РНК.

Проведен анализ последовательностей генов, кодирующих белки в геномах глубоководных архей *P. horikoshii*, *P. abyssi* и их мелководных родственников (рис. 2). Показано, что адаптивной эволюции у *Pyrococcus* на этапе изменения местообитаний с глубоководных на мелководные подвергаются преимущественно группы генов системы трансляции.

Исследовано влияние высокого давления внешней среды на структурные характеристики РНК-связывающего белка Nip7 глубоководных и мелководных архей рода *Pyrococcus* методами моделирования молекулярной динамики и компьютерного анализа. Исследованы доступности остатков данных белков растворителю при разных значениях давления. Показано, что РНК-связывающий домен белка Nip7 у глубоководного вида более устойчив к воздействию повышенного давления, чем у мелководного.

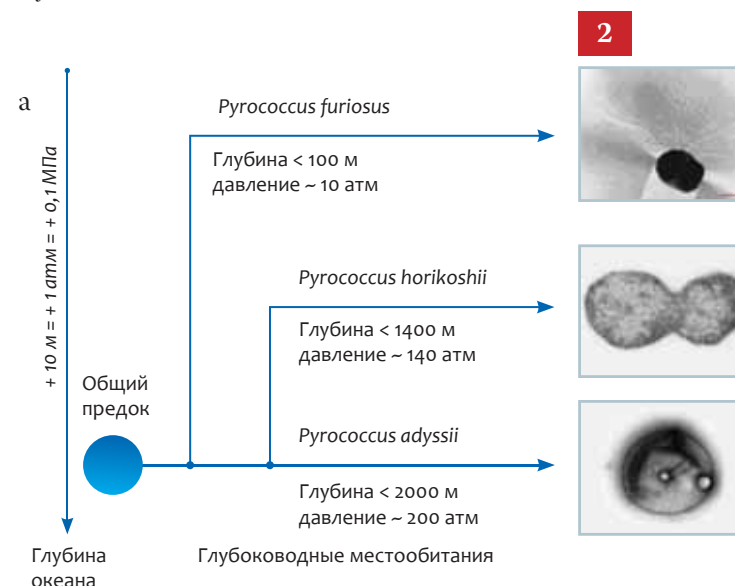
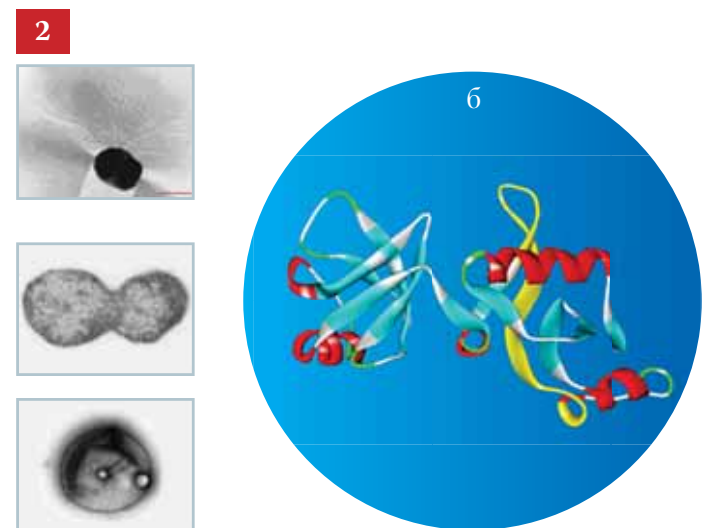
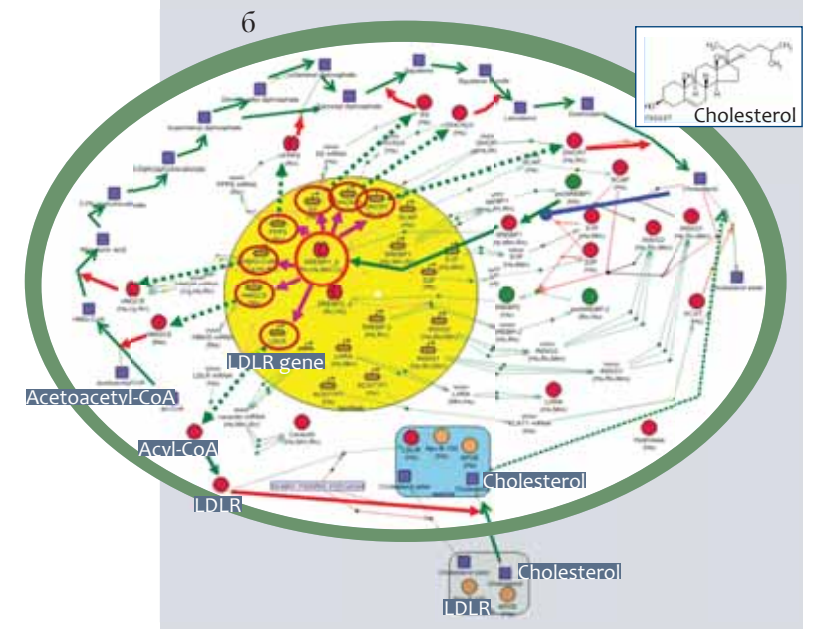


Рис. 1. Реконструкция и анализ генных сетей в системе GeneNet. а – редактор компьютерной системы GeneNet для интерактивной реконструкции генных сетей на основе аннотации экспериментальных данных из научных публикаций и баз данных. б – генная сеть регуляции биосинтеза холестерина, реконструированная с помощью компьютерной системы GeneNet.

Рис. 2. Филогенетические взаимоотношения между представителями архей рода *Pyrococcus* (*P. furiosus*, *P. horikoshii* и *P. abyssi*) (а) и анализ молекулярной динамики белка Nip7 архей *P. furiosus* (б). Для архей рода *Pyrococcus* указаны глубины мест обитания и давления (а). Приведена модель третичной структуры белка Nip7: желтым цветом выделен участок, подвергавшийся наибольшей флуктуациям при давлении 100 МПа (1000 атм), красным – α -спирали, синим – β -листы, зеленым – повороты, серым – неструктурированные элементы (б).





Заведующий Ю.Г. Матушкин,
к.б.н., с.н.с.
e-mail: mat@bionet.nsc.ru

лаборатория МОЛЕКУЛЯРНО- ГЕНЕТИЧЕСКИХ СИСТЕМ

Основные направления научных исследований

- Компьютерная геномика: анализ регуляторных районов ДНК.
- Компьютерная транскриптомика: изучение механизмов трансляции.
- Компьютерное моделирование генных сетей.
- Разработка теории генных сетей.
- Компьютерный анализ механизмов морфогенеза растений.
- Компьютерный анализ и моделирование эволюции молекулярно-генетических систем.
- Разработка алгоритмов и методов биоинформатики.
- Экспериментально-компьютерные исследования молекулярно-генетических систем.

Разработаны индекс эффективности элонгации (ИЭЭ) и комплекс программ, позволяющий оценивать уровень потенциальной экспрессии кодирующих последовательностей в секвенированном геноме одноклеточного организма. Получены численные характеристики трансляции для 759 одноклеточных организмов. Показана достоверная высокая корреляция между значениями ИЭЭ и уровнем экспрессии по биочиповым данным в *Saccharomyces cerevisiae* и *Helicobacter pylori*. Разработанный подход позволяет предсказывать уровень экспрессии генов, а также оптимизировать нуклеотидный состав транскриптов для экспрессии в заданном организме-реципиенте.

Создана двумерная модель транспорта ауксина вдоль продольной оси корня растения, реализующая механизм «отраженной волны».

Численный анализ траекторий показал, что механизм «отраженной

волны» позволяет формировать распределение ауксина, качественно соответствующее экспериментально наблюдаемому в кончике корня.

С помощью программного комплекса «Эволюционный конструктор» исследованы модели функционирования симбиотических трофических систем (сообществ) в разных условиях. Усложнение геномов путем накопления клетками генов вследствие их горизонтального переноса от других клеток – автономизация – происходит преимущественно в жестких условиях среды – низкой концентрации неспецифического субстрата. В более мягких условиях имеется тенденция к упрощению генома и, как следствие, метаболизма.

Разработаны теоретические подходы для оценки сложности механизмов регуляции экспрессии генов в стрессовых условиях и построены математические модели их функционирования. Проведен теоретический анализ механизмов регуляции экспрессии полифункционального геносенсора, созданного на основе промотора гена *dps* *E. coli*, в ответ на перекись водорода, фенол и соли кадмия. Показано наличие различных молекулярных механизмов реализации этих ответов – от достаточно простых (ответ на фенол и перекись водорода) до комплексных со сложной динамикой (ответ на кадмий). Сконструированные геносенсоры можно использовать для тестирования общей токсичности различных сред.

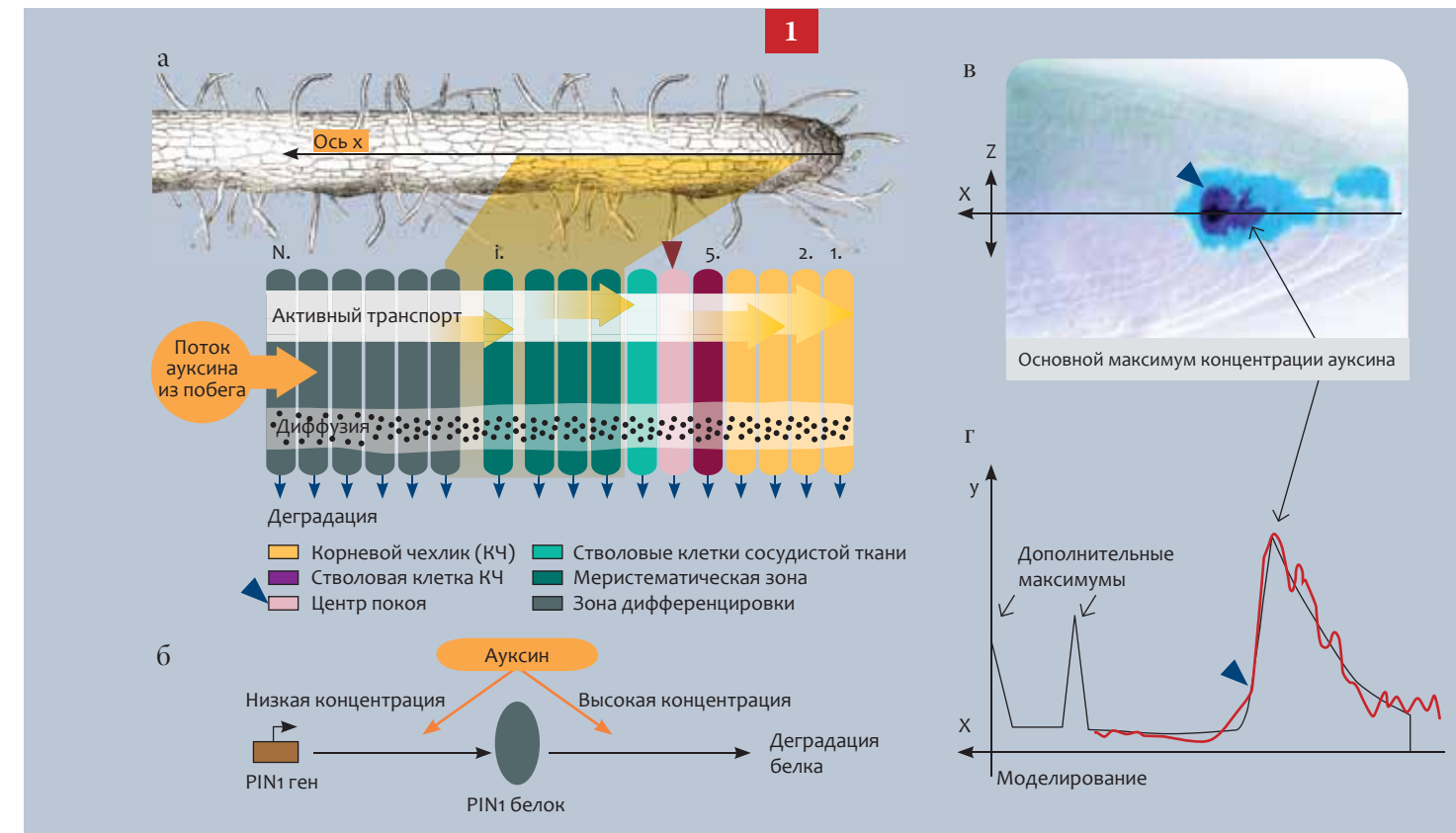
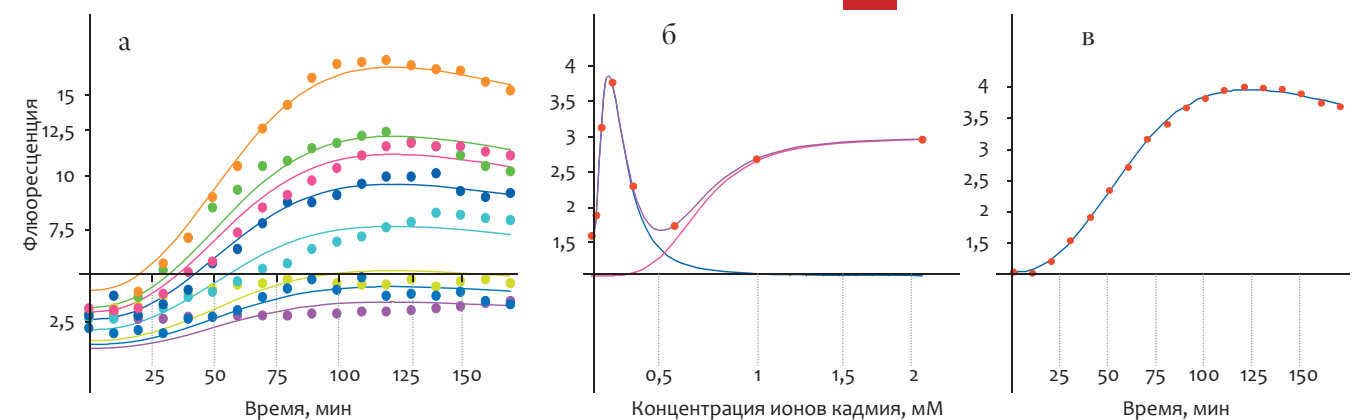


Рис. 1. а – схема клеточного ансамбля, рассмотренного в модели и расположенного вдоль центральной оси корня (ось x). Разными цветами обозначены различные клеточные типы. Стрелками указаны процессы, влияющие на формирование распределения ауксина в ансамбле клеток. б – генетическая регуляция ауксином экспрессии *PIN1* гена, рассмотренная в модели. *PIN1* белки-транспортёры обеспечивают активный транспорт ауксина. в – экспериментальные данные о распределении ауксина в кончике корня DR5::GUS растений. Максимум концентрации ауксина сохраняется в развитии в клетке, соседней с центром покоя (синяя стрелка). г – соответствие результата расчета модели (черная кривая) с экспериментально наблюдаемым распределением ауксина в кончике корня (красная кривая) (обработка экспериментально полученного изображения (в) с помощью программы ImageJ). Красным помечено распределение ауксина вдоль оси x .

Рис. 2. Показана эволюция трофической системы, где благодаря горизонтальному переносу генетического материала образуются новые популяции. Спустя 7000–8000 поколений формируются группы популяций, вытесняющие остальные популяции. Члены этой группы имеют «полный» или «почти полный» геномы.

Рис. 3. Динамика экспрессии геносенсора на основе промотора гена *dps* в присутствии ионов кадмия. а – точки – уровень флуоресценции, измеренный в эксперименте при различных концентрациях Cd^{2+} (1 – 0; 2 – 0,031; 3 – 0,062; 4 – 0,125; 5 – 0,25; 6 – 0,5; 7 – 1; 8 – 2 mM), кривые – уровень флуоресценции, рассчитанный по модели; б – точки и кривые – относительная активность промотора *dps*, рассчитанная по модели; в – точки и кривая – теоретически рассчитанный метаболический статус клетки в зависимости от времени воздействия токсического агента.





сектор КОМПЬЮТЕРНОЙ ПРОТЕОМИКИ

Заведующий В.А. Иванисенко,
к.б.н., доцент
e-mail: salix@bionet.nsc.ru

Основные направления научных исследований

- Компьютерный анализ структурно-функциональной организации белков.
- Расшифровка и функциональная аннотация протеомов и метапротеомов по данным высокопроизводительного секвенирования.
- Автоматическая реконструкция ассоциативных сетей молекулярно-генетических взаимодействий на основе компьютерного анализа текстов (text-mining) и извлечения информации из баз данных (data-mining).

Разработана программно-информационная система Protein Structure Discovery, предназначенная для решения широкого круга задач компьютерной протеомики включая предсказание внутриклеточной локализации, функции, структуры и иммунологических и аллергенных свойств белков. Специально созданный раздел системы позволяет оценивать количественные и качественные эффекты мутаций на структурные и функциональные свойства белков, а также проводить количественный анализ взаимосвязи структура–активность белков. Система Protein Structure Discovery имеет Веб-интерфейс и доступна пользователям через Интернет (<http://www-bionet.sccc.ru/psd/>).

Основные модули системы Protein Structure Discovery:

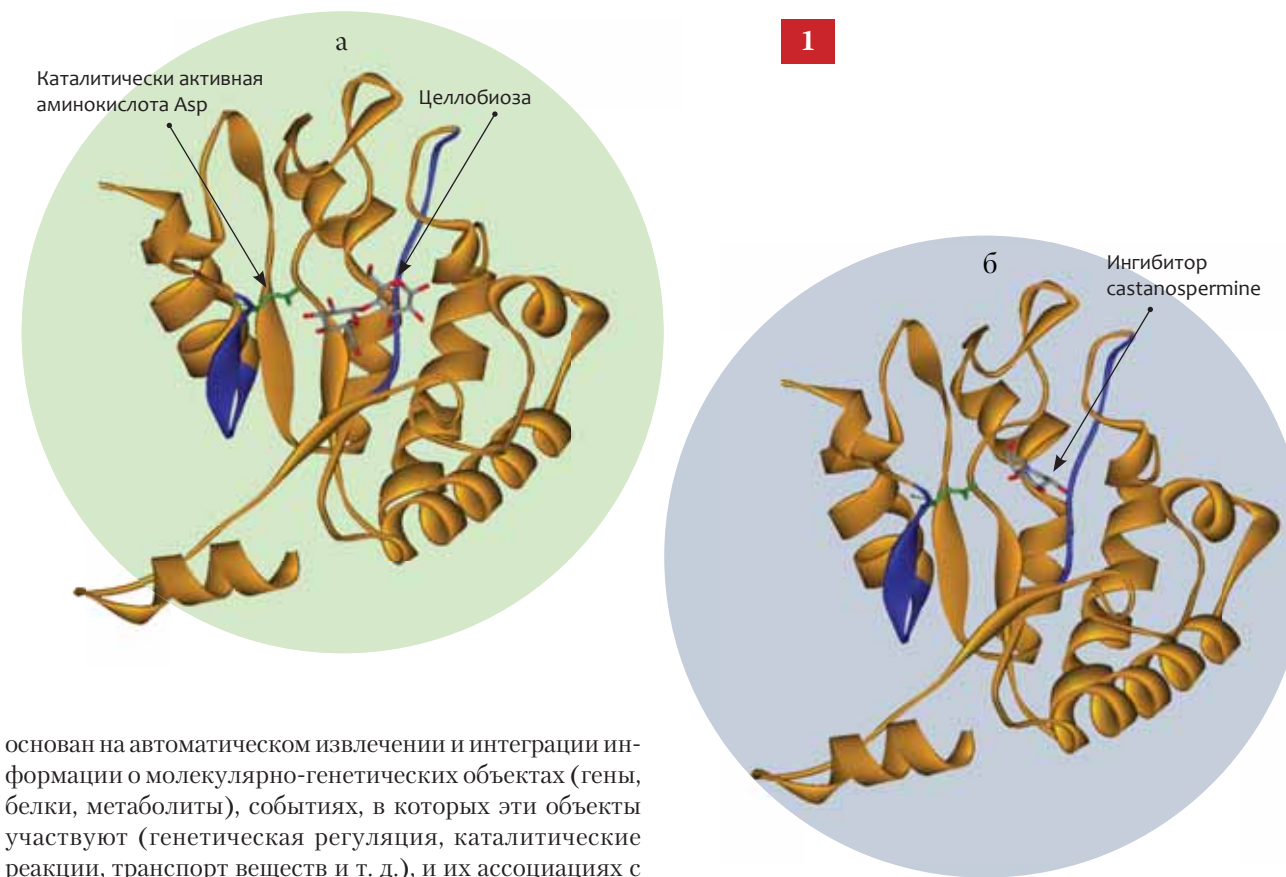
- База данных PDBSite, содержащая информацию о более чем 100 000 функциональных сайтов белков включая сайты белок-белковых, ДНК-белковых и РНК-белковых взаимодействий, активные центры ферментов, сайты посттрансляционной модификации белков, сайты связывания органических соединений, ионов металлов и неорганических соединений.
- Программа PDBSiteScan осуществляет предсказание функциональных сайтов в пространственных структурах белков на основе трехмерного выравнивания пространственных структур сайтов из базы данных PDBSite с пространственными структурами анализируемых белков.

Программа WebProAnalyst предназначена для решения задач рационального дизайна белков с улучшенными целевыми свойствами включая поиск

участков в множественном выравнивании аминокислотных последовательностей, вносящих наибольший вклад в величину специфической активности анализируемых белков; поиск ключевых физико-химических характеристик этих участков, влияющих на вариацию активности белков; построение регрессионных моделей, связывающих ключевые физико-химические характеристики найденных участков с активностями белков.

С использованием разработанной системы проведен анализ данных метагеномного секвенирования оз. Кротова Ляга (Новосибирская область). В секвенированных последовательностях найдено более 150 000 открытых рамок считывания, кодирующих потенциальные белки, для которых определены более 500 молекулярных функций и 1000 биологических процессов Gene Ontology. В результате анализа белковых семейств было установлено более 270 функциональных классов Pfam, 580 кластеров COG, 830 структурных классов SCOP. Анализ взаимосвязи *структура–активность* позволил предсказать количественные значения активностей для ряда потенциальных ферментов, перспективных для дальнейшей экспериментальной проверки. Модель пространственной структуры потенциальной гликозид-гидролазы, обладающей, согласно предсказанию, повышенной каталитической активностью по деградации целлобиозы, показана на рис. 1.

Разработана компьютерная система автоматического извлечения знаний из текстов научных публикаций и баз данных ANDCell-ANDVisio. Подход

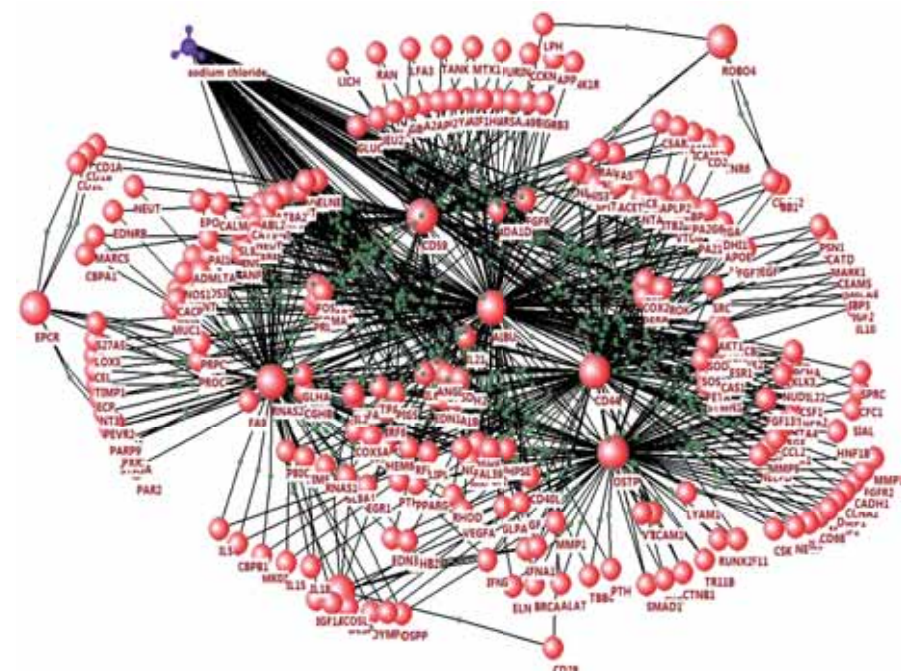


основан на автоматическом извлечении и интеграции информации о молекулярно-генетических объектах (гены, белки, метаболиты), событиях, в которых эти объекты участвуют (генетическая регуляция, каталитические реакции, транспорт веществ и т. д.), и их ассоциациях с известными патологическими процессами и заболеваниями из текстов публикаций и баз данных.

На основе анализа экспериментальных данных протеомного исследования выявлены функционально взаимосвязанные кластеры белков с коррелирующей динамикой появления в протеоме мочи у добровольцев, участвовавших в эксперименте со 105-суточной изоляцией в гермообъекте с автономными системами жизнеобеспечения в наземном экспериментальном комплексе ИМБП РАН (рис. 2).

Рис. 1. Модель пространственной структуры потенциальной гликозид-гидролазы, кодируемой ОРС из метагенома, в комплексе с целлобиозой (а) и ингибитором гидролаз castanospermine (б). Синим цветом выделены активность-модулирующие участки белка, обнаруженные с помощью WebProAnalyst. Зеленым цветом показан аминокислотный остаток Asp, входящий в активный центр. Молекулы целлобиозы и castanospermine, положения которых предсказаны программой PDBSiteScan, показаны с использованием спичечной модели.

Рис. 2. Ассоциативная интерактомная сеть белков, имеющих коррелирующую динамику появления в протеоме мочи у добровольцев, в эксперименте с изоляцией и контролируемым содержанием NaCl в пище. В сети указаны белок–белок-взаимодействия и взаимосвязи белков с NaCl (sodium chloride).





сектор
ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНЫХ
ВЫЧИСЛЕНИЙ
В БИОИНФОРМАТИКЕ

Заведующий Н.Л. Подкольный
e-mail: pnl@bionet.nsc.ru

Основные направления научных исследований

- Развитие и поддержка инфраструктуры высокопроизводительных вычислений в биоинформатике.
- Разработка методов и программных средств для решения больших задач биоинформатики и системной биологии с применением высокопроизводительных вычислений.
- Разработка интегрированных программно-информационных систем для информационной поддержки научных исследований в биоинформатике.
- Решение конкретных задач биоинформатики и системной биологии с применением высокопроизводительных вычислений.

Разработан программный комплекс MOKERN для моделирования структуры и динамики биологических макромолекулярных комплексов. MOKERN является библиотекой специализированных шаблонных компонент для построения программ в области молекулярного моделирования пространственных структур и динамики комплексов белков, нуклеиновых кислот, кофакторов и лигандов. Для описания физических взаимодействий используются силовые поля AMBER и GAFF.

Функциональность комплекса:

- восстановление пропущенных атомов, добавление водородов в соответствии с рН среды, выполнение аминокислотных замен, установка S-S связей;
- включение/выключение ограничений, оптимизация методом L-MBFGS;
- расчет площади молекулярной поверхности и контактного интерфейса;
- расчет энергии в вакууме и в водном окружении, учет энергии поляризации среды обобщенным методом Борна;
- прямая оценка свободной энергии для ионов металла;
- «слепой» и гибкий докинг белок–лиганд;
- молекулярная динамика.

Разработана база данных RETRA, интегрирующая информацию, необходимую для компьютерной поддержки исследования механизмов тканеспецифичной

регуляции транскрипции генов. База данных включает:

- структурно-функциональную организацию районов регуляции транскрипции генов: локализации генов, стартов транскрипции, экзон/интронной структуры и других сигналов в полных геномах;
- уровень экспрессии генов в различных тканях и органах на основе ДНК-чиповых данных;
- функциональную аннотацию генов;
- иерархически организованные словари и классификацию регуляторов транскрипции, стадий транскрипции, элементарных молекулярных процессов, обеспечивающих регуляцию транскрипции;
- формальное описание механизмов регуляции транскрипции включая стадии регуляции транскрипции, функциональные роли регуляторов транскрипции на различных стадиях.

База данных может быть полезна при решении следующих задач:
а) реконструкции гипотетических механизмов регуляции транскрипции с учетом информации о строении регуляторных районов генов и функциях регуляторных белков, присутствующих в заданных клетках или тканях на определенной стадии развития;
б) интерпретации закономерностей строения регуляторных районов коэкспрессирующихся генов;
в) функциональной интерпретации микрочиповых и протеомных данных, отражающих уровни экспрессии генов;
г) выявления регуляторных

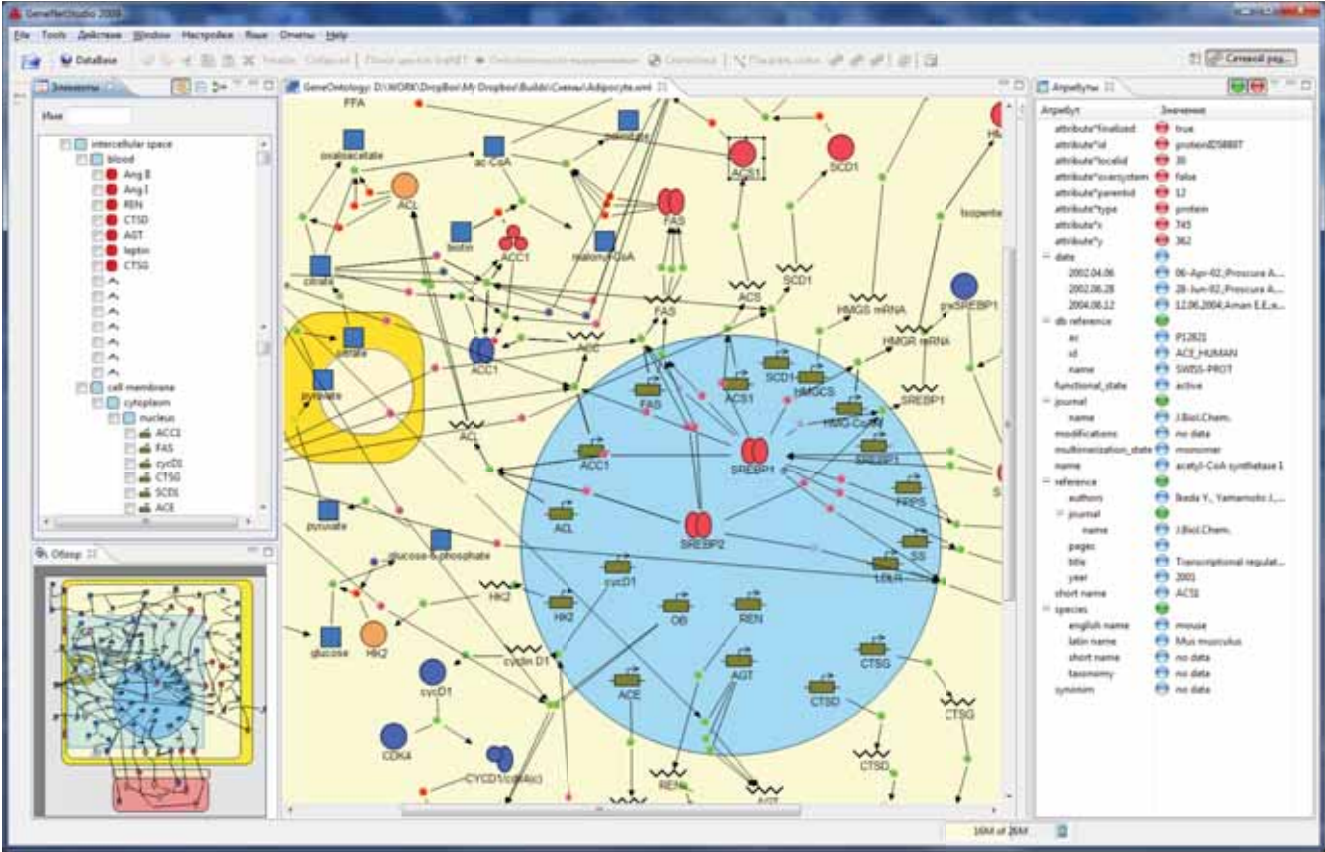


Рис. Графический интерфейс системы GeneNetStudio.

составляющих генных сетей, контролирующих фенотипические признаки организма.

Создан ряд программных продуктов для полного цикла моделирования структурно-функциональной организации молекулярно-генетических и экологических систем.

- Компьютерная система GeneNetStudio (рис.), предназначенная для визуальной реконструкции сетевых моделей генных сетей, а также дальнейшего анализа их структурно-функциональной организации включая поиск регуляторных контуров, центральных узлов, путей передачи сигнала; структурную декомпозицию генных сетей, основанную на филогенетической информации и информации о скоростях протекания процессов и др.
- База данных математических моделей «MGSmDB», предназначенная для централизованного хранения верифицированных по экспериментальным данным математических моделей элементарных молекулярно-генетических подсистем, которые можно повторно использовать для создания комплексных математических моделей молекулярно-генетических систем и численного моделирования на высокопроизводительном вычислительном кластере. База доступна через интернет и обеспечивает возможность поиска, графического отображения моделей и их математического представления, формирования множества элементарных моделей с последующей их интеграцией в одну комплексную модель, а также сохранения полученной комплексной математической модели в форматах Step+, Mathematica, SiBML, SBML и Pajek.
- Компьютерная система ENOT (Ecological Networks Online Tool) для моделирования экологических систем на основе концептуального описания их структурно-функциональной организации и онтологии предметной области. При работе с системой используется уникальное компьютерное описание предметной области (онтология), позволяющее более полно представить реконструируемый объект.

Межлабораторный семинар

ГЕНЕТИКА РАСТЕНИЙ

Подразделения семинара

Лаборатория хромосомной инженерии злаков

- Сектор генетики качества зерна

Лаборатория молекулярной генетики и цитогенетики растений

- Сектор цитогенетики злаков

Сектор генетики пшениц

Сектор экспериментального моделирования эволюционных процессов

Сектор симбиогенетики бобовых растений

Лаборатория биоинженерии растений

Лаборатория генной инженерии

Лаборатория генофондов и генетики систем размножения растений

Отдел генофондов экспериментальных растений

- Лаборатория прикладной агробиотехнологии растений





Заведующая Л.А. Першина,
д.б.н., профессор
e-mail: pershina@bionet.nsc.ru

лаборатория ХРОМОСОМНОЙ ИНЖЕНЕРИИ ЗЛАКОВ

Основные направления научных исследований

- Исследование влияния индивидуальных хромосом пшеницы и ее сородичей на проявление адаптивных и хозяйственно ценных признаков при межсортовом и чужеродном замещении хромосом.
- Изучение особенностей ядерных и митохондриальных геномов при стабилизации интрогрессивных форм мягкой пшеницы.

На основе разработанных методов хромосомной инженерии созданы новые линии мягкой пшеницы с межсортовым и чужеродным замещением. Эти линии использованы в качестве моделей для генетических исследований и как новые формы в селекции для создания сортов яровой мягкой пшеницы.

Закончено создание серии иммунных линий сорта яровой мягкой пшеницы Саратовская 29 с интрогрессией генетического материала от *T. timopheevii* и *T. tauschii* (рис. 1). Эти линии используются в качестве доноров генов, определяющих устойчивость растений мягкой пшеницы к биотическим стрессам, в селекционных программах.

На основе гибридов, полученных от скрещивания сорта пшеницы Ранг с иммунной линией 10, совместно с лабораторией яровой мягкой пшеницы СИБНИИСХ (г. Омск) создан сорт яровой мягкой пшеницы Памяти Майстренко. Этот сорт, переданный в 2009 г. в Государственное сортоиспытание, характеризуется устойчивостью к бурой и стеблевой ржавчине, мучнистой росе, засухе, высоким качеством зерна.

Идентифицированы эффективные гены, определяющие зимо- морозостойкость (*Fr*) мягкой пшеницы и ржи посевной, устойчивость пшеницы к грибным заболеваниям (*Lr*, *Pm*), повышенное содержание белка в зерне (*Pro*) и твердозерность (*ha*). Установлено, что проявление суперспельтоидности колоса пшеницы является результатом аддитивного взаимодействия двух неаллельных генов, принадлежащих к разным диплоидным геномам злаковых. Получены новые доказательства о наличии множественного аллелизма доминантного гена *Vm-B1*, расположенного в хромосоме 5В и контролирующего время колошения и скороспелость мягкой пшеницы.

Идентифицированы и изучены новые для мягкой пшеницы гены, интрогрессированные в ее геном от *Aegilops speltoides*. Установлено, что ген, определяющий спельтоидную форму колоса, интрогрессирован в длинное плечо хромосомы 5А, ген, определяющий цвет колоса и новый аллель белка зерновки глиадина, – в короткое плечо хромосомы 1В. Ген *HL2Aesp*, определяющий опушение листовой пластинки, картирован в коротком плече хромосомы 7В вблизи микросателлитного маркера Xgwm537.

Установлено, что хромосомы дикорастущего ячменя *H. marinum* subsp. *gussoneanum* обладают компенсационной способностью по отношению к хромосомам мягкой пшеницы.

Созданы новые генетические модели – аллоплазматические (с цитоплазмой дикорастущего ячменя *H. marinum* subsp. *gussoneanum*) и эуплазматические (с цитоплазмой пшеницы) ячменно-пшеничные замещенные линии 7НЛ(7D) (рис. 2). Сравнительное изучение этих линий позволило сделать заключение о возможности использования 18S/5S митохондриального повтора в качестве маркера для детекции мтДНК ячменя и пшеницы в процессе интрогрессивной гибридизации.

В результате изучения характера изменчивости ядерных и цитоплазматических геномов у аллоплазматических линий мягкой пшеницы, несущих цитоплазму ячменя (*H. vulgare* или *H. marinum* ssp. *gussoneanum*), обнаружен переход определенных последовательностей митохондриальной ДНК от состояния гетеро-

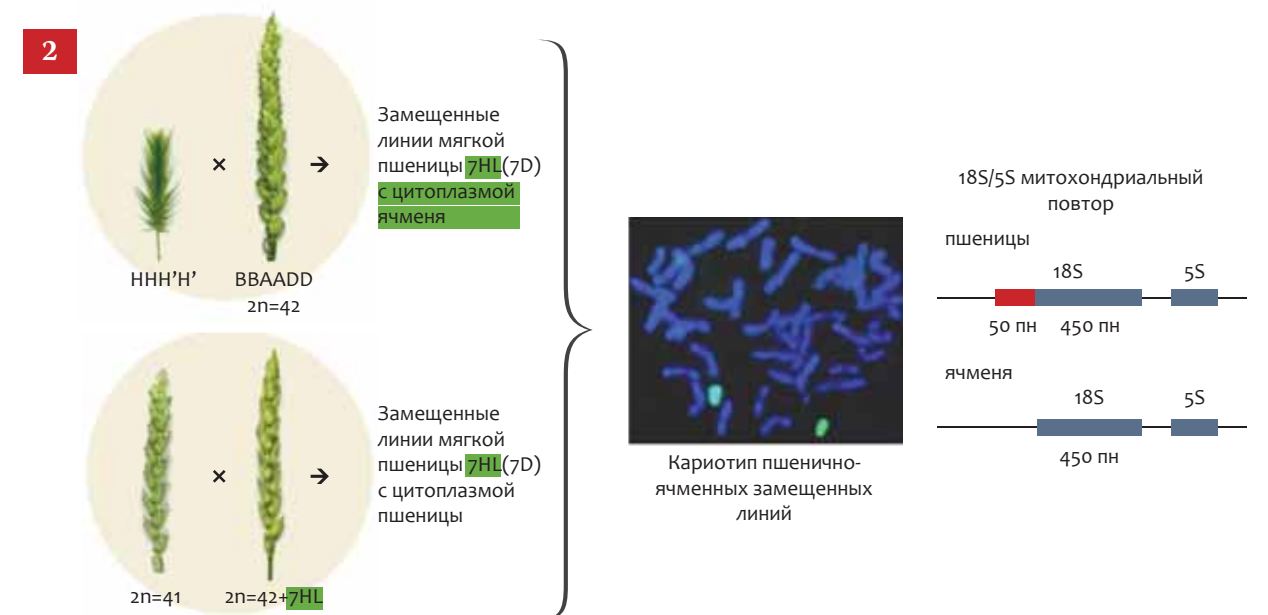
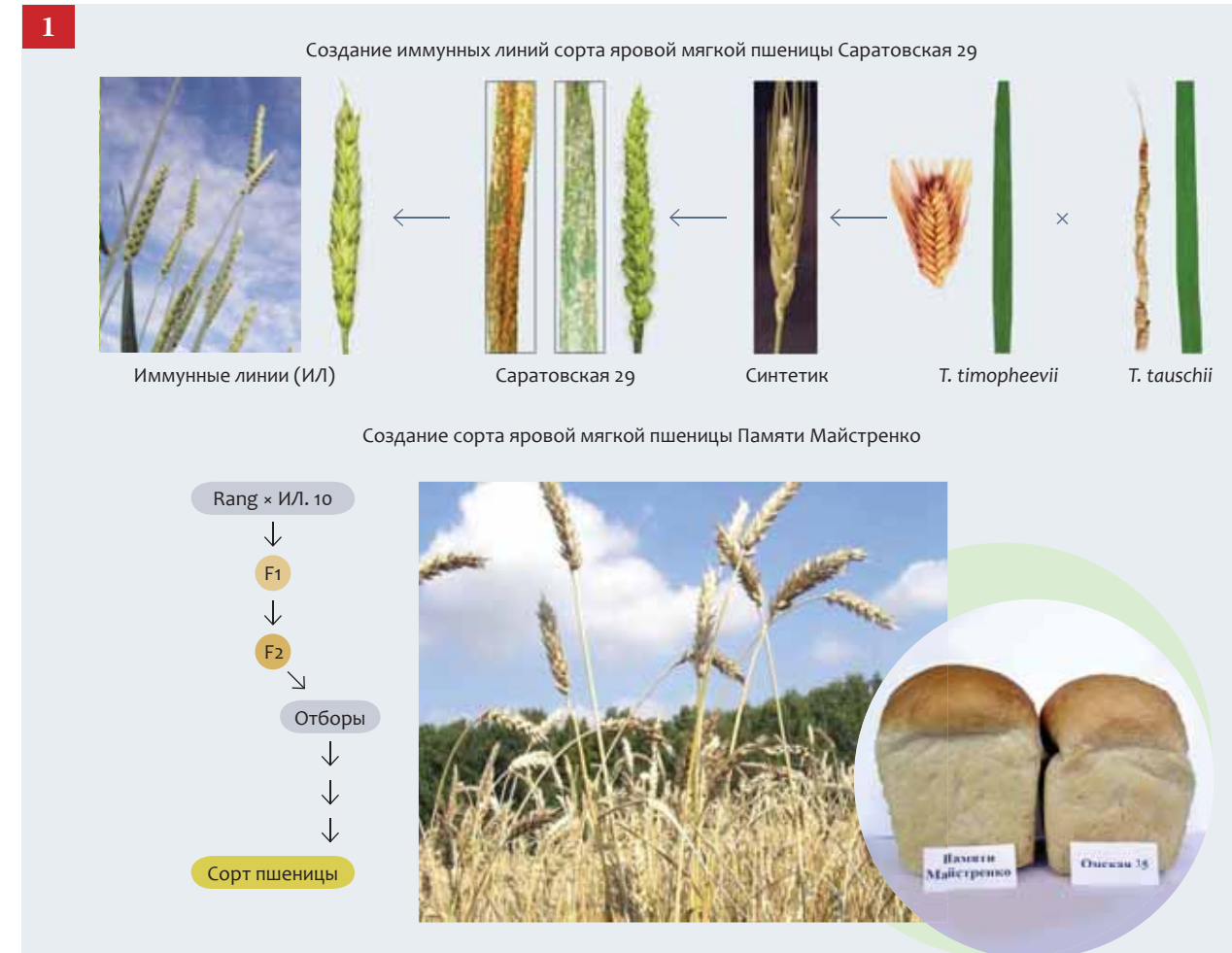


Рис. 1. Схема создания иммунных линий и сорта яровой мягкой пшеницы Памяти Майстренко.

Рис. 2. Схема создания аллоплазматических и эуплазматических ячменно-пшеничных замещенных линий, использованных для изучения особенностей 18S/5S митохондриального повтора.

плазмии в гомоплазматическое состояние пшеничного типа в зависимости от особенностей восстановления фертильности и видовой принадлежности ячменя. У беккроссных потомков ячменно-пшеничных гибридов выявлена ассоциированность перехода определенных районов хлоропластной ДНК от гомоплазмии ячменного типа к гетероплазмии с восстановлением фертильности.



Заведующая Т.А. Пшеничникова, к.б.н.
e-mail: wheatpsh@bionet.nsc.ru

сектор
ГЕНЕТИКИ КАЧЕСТВА ЗЕРНА

Основное направление научных исследований

- Изучение генетических основ формирования клейковинного комплекса зерновки пшеницы, определяющего технологические свойства зерна и муки, в зависимости от влияния абиотических факторов.

Сектор генетики качества зерна является единственной исследовательской группой в России, занимающейся многолетним генетическим анализом технологических свойств зерна и муки пшеницы. Этот комплексный признак является, наряду с урожайностью, важнейшим целевым признаком в селекции сортов пшеницы, влияющим на их передачу в сельскохозяйственное производство.

Технологические свойства зерна и муки очень разнообразны: это и крупное, стекловидное или мучнистое зерно, способное давать хороший выход муки, способность муки образовывать крепкую, формирующуюся клейковину с хорошими физическими свойствами, наконец, иметь определенные хлебопекарные свойства. Они контролируются разными генетическими системами, являются полигенными по своему генетическому контролю и весьма подвержены влиянию внешней среды. Наибольшее значение для хлебопекарного использования, традиционного для России, имеют физические свойства муки и теста. Именно эти свойства клейковины дают сорту название «сильный» сорт, улучшитель слабых сортов. Тесто из муки «сильного» сорта устойчиво сохраняет свои физические свойства в процессе замеса и брожения, при расстойке и выпечке сохраняет форму. Хлеб из такой муки имеет высокий объем, правильную форму, хорошую пористость.

Непревзойденным по сохранению в любых условиях высоких физических свойств теста по-прежнему остается сорт Саратовская 29. В институте по этому сорту созданы межсортовые замещенные линии Саратовская 29/Янецкис Пробат, в которых донором отдельных хромосом является сорт с более низкими свойствами муки и теста, чем у Саратовской 29. Сила муки донора составляет 60 % от силы муки С29, причем это происходит за счет пропорционального уменьшения упругости теста примерно на такую же величину (рис. 1).

Физические свойства муки и теста межсортовых замещенных линий Саратовская 29/Янецкис Пробат были многократно изучены в различных условиях среды. Было обнаружено, что наиболее близкий к донору эффект по физическим свойствам теста всегда показывала линия с замещением хромосомы 4D. Снижение силы муки в ней происходило за счет снижения упругости до значений сорта-донора. Было очевидно, что эта хромосома несет главный генетический фактор, влияющий на изучаемый признак.

Для его картирования на хромосоме 4D был создан специальный генетический материал – замещенные рекомбинантные дигаплоидные линии. Каждая дигаплоидная линия является носителем рекомбинантной хромосомы 4D, несущей фрагменты различной длины реципиента и донора. Они были генотипированы Е.К. Хлесткиной с помощью 15 полиморфных микросателлитных маркеров. Линии прошли фенотипирование в полевых условиях, и среди них был обнаружен полиморфизм по силе муки и упругости (табл.). Эти фенотипические данные были интегрированы в созданную молекулярную карту хромосомы 4D для определения местоположения локусов количественных признаков (QTL), ассоциированных с силой муки и упругостью.

Такие локусы удалось картировать в районе микросателлитного маркера *Xgwm165* в длинном плече хромосомы 4D. Локусы имели высокий уровень достоверности, т. е. выявились как главные локусы в одном и том же местоположении для двух признаков (рис. 2).

Рис. 1. Сравнительные физические свойства теста сортов Саратовская 29 (С29) и Янецкис Пробат (ЯП).

Рис. 2. Молекулярная карта сцеплений хромосомы 4D и положение локусов (QTL), ассоциированных с физическими свойствами муки и теста сорта пшеницы Саратовская 29.

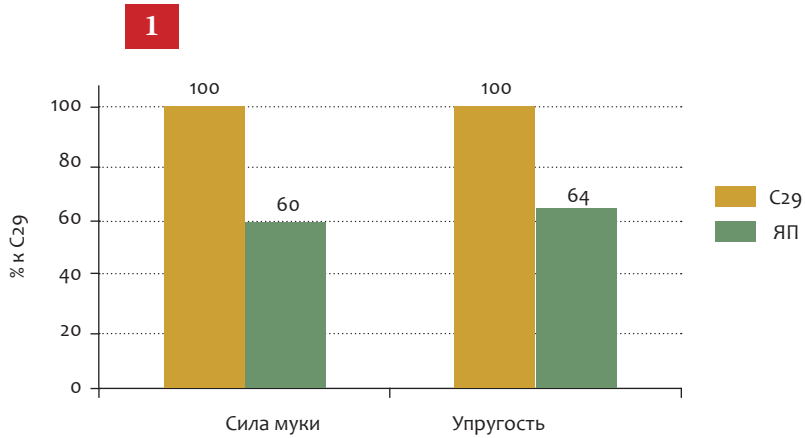
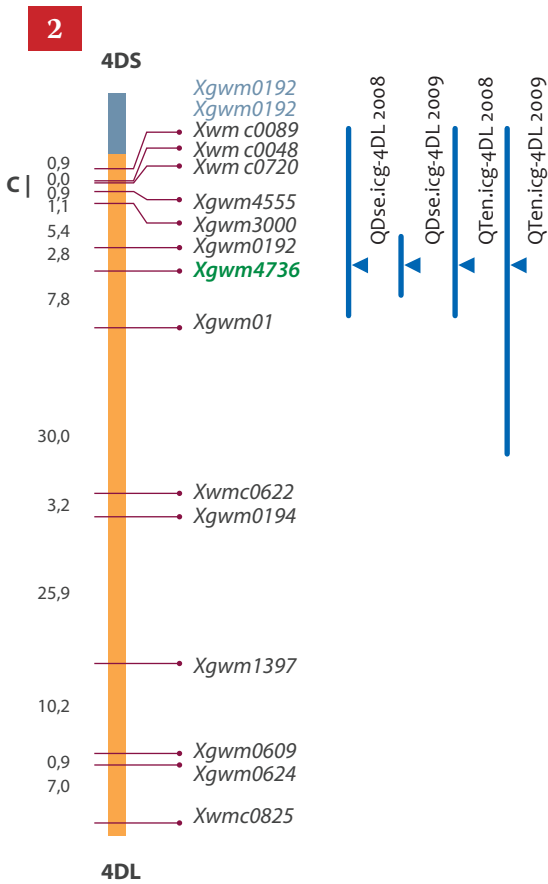


Таблица. Фенотипические данные по физическим свойствам муки и теста замещенных рекомбинантных дигаплоидных линий С29/ЯП 4D

Полевые сезоны	Сила муки, е.а.				Упругость теста, мм			
	С29	ЯП	Среднее линий	Лимиты	С29	ЯП	Среднее линий	Лимиты
2008	453	237	361,2 ± 64,2	177 – 504	151	95	130,6 ± 19,6	67 – 157
2009	501	225	325,7 ± 58,9	150 – 545	151	82	99,2 ± 14,0	64 – 190

Таким образом, впервые было показано, что уникальная эластичность теста сильного сорта С29, улучшителя муки слабых сортов, определяется аллельным состоянием локуса количественного признака на хромосоме 4DL. Предполагается, что выявленный локус представляет собой генетический фактор высокой иерархии, осуществляющий превращение белков клейковины в сложный надмолекулярный комплекс в процессе созревания зерновки.





Заведующая Е.А. Салина,
д.б.н., профессор
e-mail: salina@bionet.nsc.ru

лаборатория

МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ И ЦИТОГЕНЕТИКИ РАСТЕНИЙ

Основные направления научных исследований

- Структурная организация и эволюция генома мягкой пшеницы и ее сородичей.
- Структурно-функциональная организация генов, контролирующих развитие и морфологические признаки пшеницы.
- Изучение и молекулярно-генетическое картирование локусов количественных признаков (QTL).
- Генотипирование сортов и гибридов мягкой пшеницы. Использование методов хромосомного маркирования для создания новых генетических ресурсов пшеницы (маркер-опосредованная селекция).

Несомненным достижением лаборатории является микросателлитное картирование (локализация) на хромосомах более 40 различных генов, контролирующих морфологические и хозяйственно ценные признаки пшеницы, а также генов биосинтеза органических соединений, важных для развития растений и их защиты (рис. 1).

Постоянная разработка и создание банка данных по различным молекулярным маркерам, таким, как RAPD, SSR, SNP, RFLP, позволили впервые в мире построить молекулярно-генетические карты для генома тетраплоидных пшениц группы *Timopheevii* (геномная формула GGA^aA^a, 28 хромосом) и генома дикорастущего злака *Aegilops speltoides* (геномная формула SS, 14 хромосом). Важность данной работы обусловлена тем, что пшеницы *Timopheevii* и вид *Ae. speltoides* имеют общие предковые формы с мягкой пшеницей и часто вовлекаются в скрещивание с ней для получения новых перспективных гибридных форм мягкой пшеницы.

При использовании хромосом-специфичных молекулярных маркеров и методов гибридизации *in situ* охарактеризованы коллекции гибридных форм пшеницы, полученные ранее в ИЦиГ СО РАН. Так, впервые составлены молекулярно-генетические карты для серии замещенных линий пшеницы, генотипированы интрогрессивные линии, полученные от скрещивания *T. aestivum* × *T. timopheevii*, *T. aestivum* × *Ae. speltoides*, *T. aestivum* × *Secale cereale* (рожь). Использование мик-

росателлитных маркеров позволило впервые провести геномную «дактилоскопию» отечественных сибирских сортов пшеницы.

Разработка различных молекулярных маркеров и создание насыщенных генетических карт важнейших сельскохозяйственных культур позволили проводить направленный отбор нужных генотипов и маркировать нужные участки хромосомы и генетические локусы, которые необходимо интегрировать в сельскохозяйственную культуру. Проведен мониторинг процессов беккроссирования с использованием молекулярных маркеров. Показаны необходимость и актуальность привлечения молекулярных маркеров для ускорения процессов по созданию новых перспективных форм мягкой пшеницы на основе внутри- и межвидовой гибридизации. Впервые в России разработана схема проведения маркер-опосредованной селекции (патент № 2407283, 2010 г.). Использование этой схемы позволило в короткие сроки создать новые доноры устойчивости мягкой пшеницы к бурой ржавчине.

Развитие базы данных по нуклеотидным последовательностям ДНК пшеницы и других злаков позволило разработать подходы к изучению молекулярно-генетических механизмов, ответственных за формирование признаков злаков. Так, было установлено, что признак пурпурной окраски зерна пшеницы напрямую связан с экспрессией регуляторного гена биосинтеза антоцианов *Mus1* в клетках оболочки зерна (рис. 2).

В последние три года коллектив приступил к работе с ВАС-клонами

мягкой пшеницы, направленной на отбор клонов с использованием специфичных праймеров; локализацию клонов на хромосомы методом *in situ* гибридизации (рис. 3); секвенирование и аннотирование нуклеотидных последовательностей ВАС-клонов (рис. 4).

Одним из результатов работ по молекулярно-генетическому картированию хромосом пшеницы и ее сородичей, анализу нуклеотидных последовательностей ДНК стало создание базовых ресурсов для работ по физическому картированию и секвенированию хромосомы 5В. С данным направлением работ ИЦиГ СО РАН вошел в состав Международного консорциума по секвенированию генома пшеницы.

В рамках консорциума совместно с лабораторией молекулярной цитогенетики и цитометрии Института экспериментальной ботаники Чехии получена ВАС-библиотека короткого плеча хромосомы 5В (5BS = 290 млн п.н.), состоящая из 43776 клонов со средней длиной вставки 122 000 н.п. Для локализации ВАС-клонов на хромосоме 5В построена базовая консенсусная генетическая карта этой хромосомы по результатам картирования четырех популяций F₂ от скрещивания различных сортов пшеницы. На консенсусной карте хромосомы 5В локализовано 70 SSR и EST-SSR маркеров. Собраны и созданы делеционные линии мягкой пшеницы, позволяющие проводить физическое картирование 5В хромосомы.

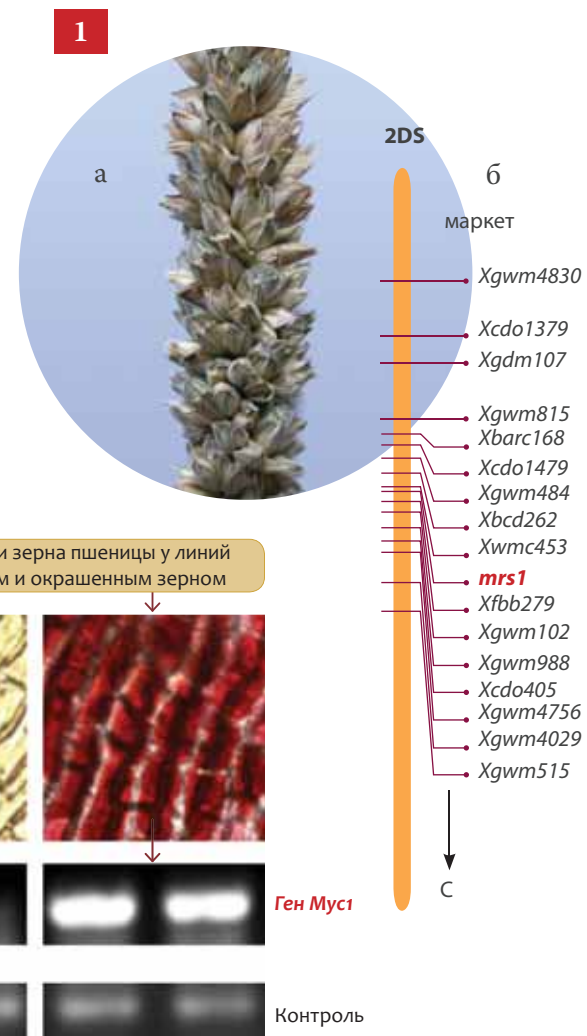
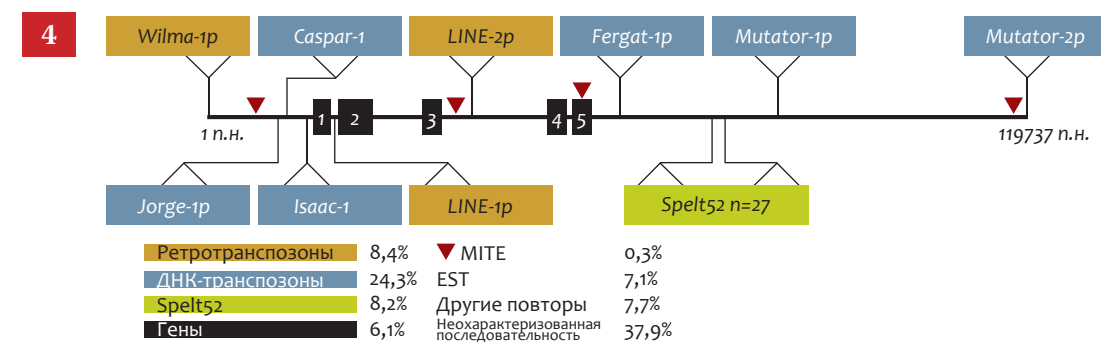


Рис. 1. «Многорядный» колос мутантной линии мягкой пшеницы (а), детерминированный геном *mrs1*, локализованным на генетической карте короткого плеча хромосомы 2DS (б).

Рис. 2. Увеличение уровня экспрессии гена *Mus1* в клетках оболочки окрашенного зерна относительно контроля (в двух повторностях).

Рис. 3. Идентификация трех геномов мягкой пшеницы методом *in situ* гибридизации ВАС-клонов 2383A24 (зеленый цвет, В-геном) и 112D20 (красный цвет, D-геном). Хромосомы А-генома практически не гибридизуются с данными ВАС-клонами (голубой цвет).

Рис. 4. Структура ВАС_205008 длиной 119737 п.н. Указано расположение различных семейств транспозонов, повторяющихся последовательностей Spelt52, генов и экспрессирующихся последовательностей ДНК (EST).





Заведующая О.Г. Силкова, к.б.н.
e-mail: silkova@bionet.nsc.ru

сектор
ЦИТОГЕНЕТИКИ ЗЛАКОВ

Основные направления научных исследований

- Регуляция мейоза у растений с полигаплоидным геномом в трибе Triticeae:
 - регуляция мейоза у растений;
 - эффективность в получении полиплоидных форм.
- Интрогрессия чужеродных хромосом в геном мягкой пшеницы:
 - изучение механизмов интрогрессии и структуры модифицированных хромосом;
 - получение форм с хозяйственно ценными признаками.

Проводится исследование генетической регуляции мейоза у амфигаплоидов ABDR ($4x = 28$), полученных с использованием пшенично-ржаных дисомно замещенных линий ($2n = 42$). Изучение механизмов регуляции мейоза у растений с полигаплоидным геномом дает дополнительные знания об эволюции мейоза, регуляции мейоза в целом, а также позволяет подобрать более эффективные подходы для получения синтетических аллополиплоидов. Установлены паттерны деления мейоза, mitotic-like и meiotic-like, зависящие от типа поведения хромосом в анафазе I. На поведение хромосом влияют ориентация центромерного района и его разделение, что приводит к редукционному, редукционно-эквационному, а также эквационному делению хромосом (рис. 1). Установлена хромосомная локализация паттернов делений.

В мейоцитах с mitotic-like делением биваленты и кольцевые униваленты (спаривание между плечами одной хромосомы) образуются с очень низкими частотами по сравнению с мейоцитами с meiotic-like делением, что позволяет предполагать митотическое деление в мейозе амфигаплоидов (рис. 2).

Выявлены генотипы замещенных линий, экспрессирующие два типа реституции ядра, FDR (first division restitution) и SDR (second division restitution или mitotic-like деление), в результате которых образуются диплоидные гаметы и формируются аллополиплоидные геномы (рис. 3).

Для понимания механизмов интрогрессии чужеродного материала третичного генофонда, характера структурных изменений хромосом, а также для селекционных целей важно иметь информацию о передаче хромосом ржи в геном мягкой пшеницы. Результатами исследований выявлена индивидуальность в частотах пшенично-ржаного замещения и образования хромосомных модификаций. В потомстве диманосомиков хромосомы 1R, 2R и 5R, образуя телоцентрики, изохромосомы и различные транслокации (рис. 4), передаются через гаметы в два раза реже гомеологов пшеницы.

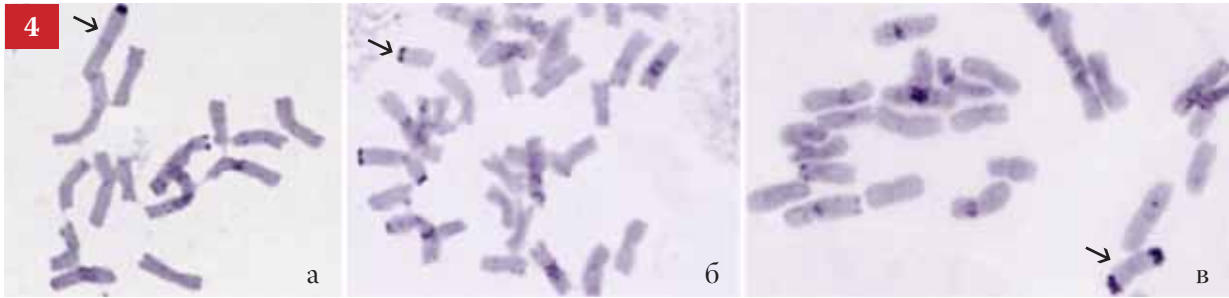
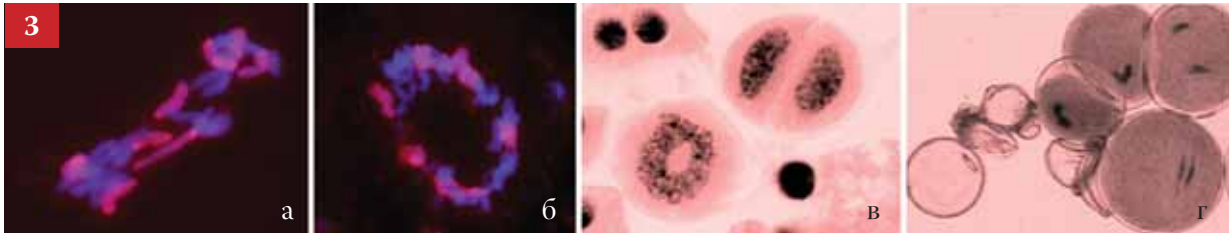
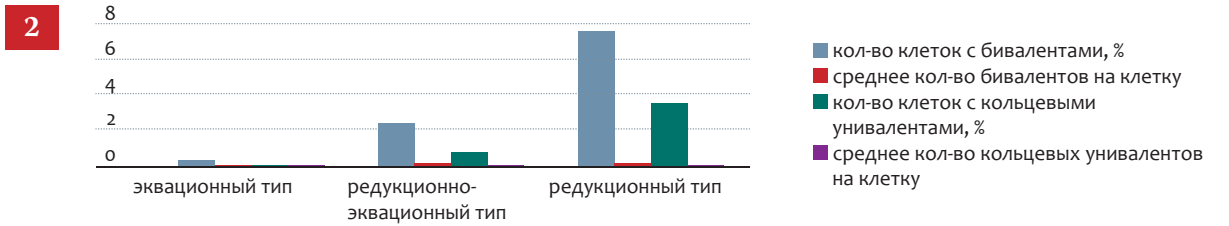
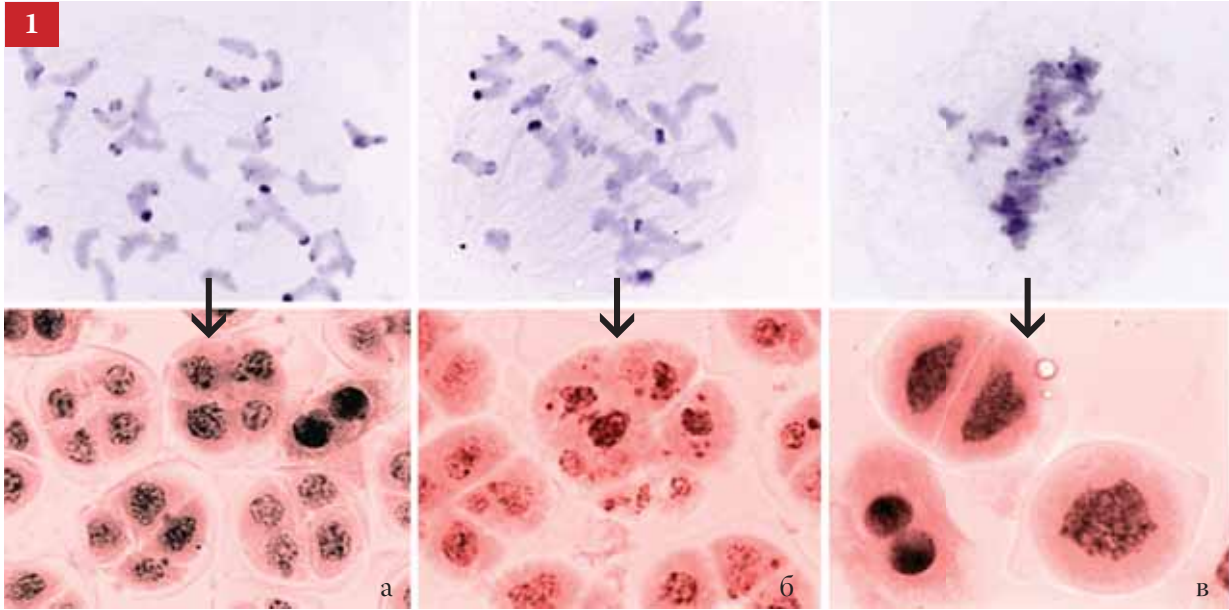


Рис. 1. Паттерны мейотического деления у амфигаплоидов ABDR. Meiotic-like деление: а – редукционный тип с образованием тетрад; б – редукционно-эквационный тип с образованием тетрад с фрагментарным хроматином; mitotic-like деление: в – эквационный тип с образованием диад и монад.
Рис. 2. Частоты образования бивалентов и кольцевых унивалентов в мейоцитах с различными типами поведения хромосом.
Рис. 3. Два типа реституции, приводящие к формированию аллополиплоидов: а – SDR, биполярная ориентация хромосом в метафазе I (GISH); б – FDR, хромосомы расположены по кругу кинетохорами внутрь; в – образование диад и монад; г – частично фертильные пыльцевые зерна.
Рис. 4. Модификации хромосом ржи 2R (а, б) и 5R (в) (указаны стрелками). а – транслокация T2R.2DL; б – телоцентрик t2RS; в – изохромосома i5RS.



Заведующий Н.П. Гончаров,
член-корр. РАСХН, д.б.н.
e-mail: gonch@bionet.nsc.ru

сектор
ГЕНЕТИКИ ПШЕНИЦ

- Основные направления научных исследований
- Изучение частной и сравнительной генетики пшениц и их сородичей.
 - Доместикация и эволюция пшениц.
 - Систематика пшениц.

Созданы фен- и генетические коллекции пшениц на ди- и тетраплоидном уровне, позволяющие успешно проводить исследования такого плана. Создание первых в мире изогенных линий по генам *Vrn*, контролирующим тип (яровость–озимость) и скорость развития, на базе тетраплоидной пшеницы позволило провести работы по геногеографии генов *Vrn* у тетраплоидных видов пшениц. В настоящее время ведется их молекулярно-генетическое изучение. Было выполнено исследование аллельной вариабельности промоторного района гена *VRN1* (рис. 1).

Полученные результаты позволяют выяснить, что предложенный ранее механизм активации *VRN1* гена у культурной однозернянки, вероятно, характерен и для диких видов рода. То есть яровые варианты пшениц возникли в природных популяциях в результате нарушений промотора *VRN1* гена и далее были унаследованы культурными диплоидными формами, в то время как в А геномах полиплоидных пшениц

мутации были отобраны «первобытными» селекционерами заново.

Сделан вывод о том, что возникновение яровости у диплоидных эгилопсов происходило независимо от диплоидных пшениц, что увеличивает возможность использования новых генов при селекции культуры и создании генколлекции.

Известно о наличии четырех различных геномов у доместицированных видов пшениц (род *Triticum* L.) – А, В, D и G, различные комбинации которых формируют три группы видов – ди-, тетра- и гексаплоиды. В результате изучения цитоплазматических (Golovnina *et al.*, 2008) и ядерных маркеров, специфических для А и В геномов, а также проведения на их основе филогенетического анализа видов рода *Triticum* построена схема его филогении (рис. 2).

На основании сравнительно-генетического изучения рода создана его новая классификация (табл.).

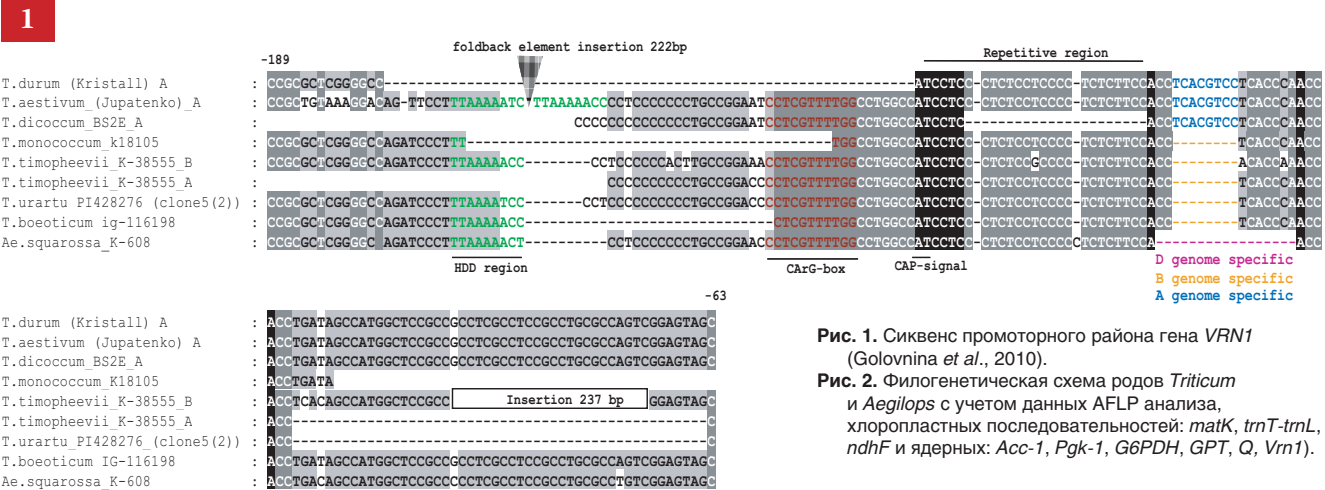


Рис. 1. Сиквенс промоторного района гена *VRN1* (Golovnina *et al.*, 2010).
Рис. 2. Филогенетическая схема родов *Triticum* и *Aegilops* с учетом данных AFLP анализа, хлоропластных последовательностей: *matK*, *trnT-trnL*, *ndhF* и ядерных: *Acc-1*, *Pgk-1*, *G6PDH*, *GPT*, *Q*, *Vrn1*).

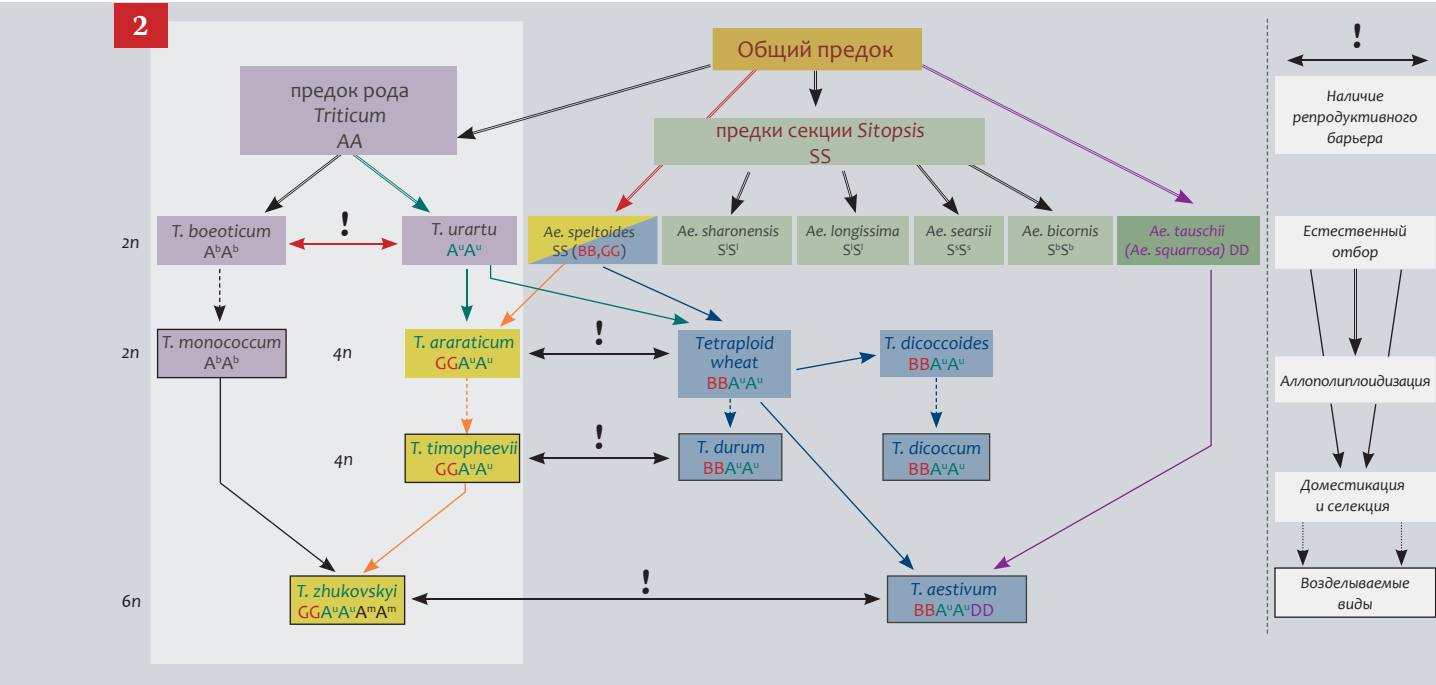


Таблица
Система рода *Triticum* (из: Н.П. Гончаров (2002) с изменениями по N.P. Goncharov (2005))

Секция	Группа	Вид	2n	Геном
Monococcop Dum.	Пленчатые	<i>T. urartu</i> Thum. ex Gandil.	14	A ^u
		<i>T. boeoticum</i> Boiss.	14	A ^b
		<i>T. monococcum</i> L.	14	A ^b
		<i>T. sinskajae</i> A.Filat. et Kurk.	14	A ^b
			14	A ^b
Dicoccoides Flaksb.	Полбы	<i>T. dicoccoides</i> (Курн. ex Aschers. et Graebn.) Schweinf.	28	BA ^u
		<i>T. dicoccum</i> (Schrunk) Schübl.	28	BA ^u
		<i>T. karamyshevii</i> Nevski	28	BA ^u
		<i>T. ispahanicum</i> Heslot	28	BA ^u
			28	BA ^u
	Голозерные	<i>T. turgidum</i> L.	28	BA ^u
		<i>T. durum</i> Desf.	28	BA ^u
		<i>T. turanicum</i> Jakubz.	28	BA ^u
		<i>T. polonicum</i> L.	28	BA ^u
		<i>T. aethiopicum</i> Jakubz.	28	BA ^u
Triticum	Пленчатые	<i>T. macha</i> Dekapr. et Menabde	42	BA ^u D
		<i>T. spelta</i> L.	42	BA ^u D
		ssp. <i>tibetanum</i> (Shao) N.P. Gontsch. *		
		ssp. <i>yunnanense</i> (King) N.P. Gontsch.		
		<i>T. vavilovii</i> (Thum.) Jakubz.	42	BA ^u D
	Голозерные	<i>T. compactum</i> Host	42	BA ^u D
		<i>T. aestivum</i> L.	42	BA ^u D
		ssp. <i>aestivum</i>		
		ssp. <i>hadropyrum</i> (Flaksb.) Tzvel.		
		ssp. <i>petropavlovskiy</i> (Udacz. et Migusch.) N. Gontsch.		
	Пленчатые	<i>T. sphaerococcum</i> Perciv.	42	BA ^u D
		<i>T. araraticum</i> Jakubz.	28	GA ^u
		<i>T. timopheevii</i> Zhuk.	28	GA ^u
		ssp. <i>militinae</i> (Zhuk. et Migusch.) N.P. Gontsch.		
		<i>T. zhukovskiy</i> Menabde et Erizjan**	42	GA ^u A ^b
Compositum N.P. Gontsch.	Пленчатые	<i>T. palmovae</i> G.Ivanov (syn. <i>T. erebuni</i> Gandil.)	28	DA ^u (DA ^b)
		<i>T. dimococcum</i> Schieman et Staudt	42	BA ^u A ^b
		<i>T. soveticum</i> Zhebrak	56	BA ^u GA ^t
		<i>T. kiharae</i> Dorof. et Migusch.	42	GA ^u D
		<i>T. borisovii</i> Zhebrak	70	BA ^u DGA ^t
	Голозерный	<i>T. flaksbergeri</i> Navr.	56	GA ^u BA ^u

* Подвиды указаны только для случаев, рассмотренных с применением сравнительно-генетического анализа автором данной системы. Наличие других подвидов см. в работе В.Ф. Дорофеева с сотр. (Пшеница, 1979).
** До обнаружения в природе и описания естественного вида *T. zhukovskiy* (Менабде, Ериця, 1960) были экспериментально получены два вида-синтетика *T. timococcum* Kostov (Костов, 1936) и *T. edvardii* Zhebrak (Жебрак, 1939) с такой же геномной формулой.



Заведующий О.Э. Костерин, к.б.н.
e-mail: kosterin@bionet.nsc.ru

сектор ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ЭВОЛЮЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ

Основные направления научных исследований

- Генетический контроль репродуктивных барьеров на модели ядерно-цитоплазматического конфликта в роде *Pisum*.
- Экспериментальное моделирование возникновения В-хромосом у растений путем создания линии гороха с генетически пустой экстра-хромосомой.
- Изучение изменчивости генов гистона H1, ее роли в адаптивной эволюции.
- Филогеография диких представителей рода *Pisum*.

У посевного гороха обнаружен феномен ядерно-цитоплазматической несовместимости. При скрещивании дикорастущего образца VIR320 (*Pisum sativum* subsp. *elatius*) в качестве материнского родителя с культурными формами гороха гибриды первого поколения отличаются нарушенной хлорофилльной пигментацией, затрагивающей отдельные клоны клеток, редукцией листовых пластинок и прилистников, усиленным ветвлением, резко сниженной плодовитостью. Гибриды от скрещиваний в обратном направлении нормальны. Обнаружено, что проявления конфликта преодолеваются при неканоническом двуродительском наследовании пластид, причем зеленые сектора содержат отцовские пластыды, что свидетельствует о наличии конфликта между ядерным геномом и пластидным (рис.). Установлено, что данный конфликт определяется по модели доминантной комплементации двумя несцепленными ядерными локусами, названными *scs1* и *scs2*: аномальный фенотип проявляется при наличии «культурного» аллеля в каждом из двух локусов. В отношении фертильности пыльцы эти локусы являются полимерными: наличие «культурного» аллеля в любом из них снижает фертильность пыльцы гибридов на 50–60 %. В сочетании с цитоплазмой от ВИР320 «культурный аллель» *scs1* является спорофитной и, по-видимому, гаметофитной леталью, а «культурный» аллель *scs2* – гаметофитной детрименталью. *Scs1* картирован в группе сцепления III между генами *PhlC* и *sym7*, а ген *scs2* – в группе

сцепления V между генами *gp* и *Met2*. В скрещиваниях других представителей рода горох, принадлежащих к видам *Pisum fulvum*, *P. abyssinicum* и подвиду *P. s. subsp. elatius*, также наблюдаются признаки ядерно-цитоплазматической несовместимости, которая выражена в основном в виде сниженной семенной продуктивности и фертильности пыльцы без явных нарушений хлорофилльной пигментации.

Гистон H1 – важный компонент хроматина эукариот, взаимодействующий со специфическими генными регуляторами и тем самым составляющий часть молекулярной среды, в которой происходит экспрессия любого гена. Изменения молекулы H1 могут влиять на дифференциальную экспрессию многих генов и, следовательно, на многие признаки фенотипа. У бобовых растений выявлен высокий уровень внутривидового полиморфизма по гистону H1. При использовании изогенных линий гороха, чины и чечевицы в качестве модели было продемонстрировано влияние замещения аллельных вариантов H1 на многие количественные признаки. Высокий уровень изменчивости С-терминального домена гистона H1 позволил провести реконструкцию филогенетических отношений в роде горох (*Pisum* L.) на основе первичной структуры гена, кодирующего один из его субтипов.

Анализ встречаемости аллелей трех диморфных молекулярных маркеров из разных клеточных гено-

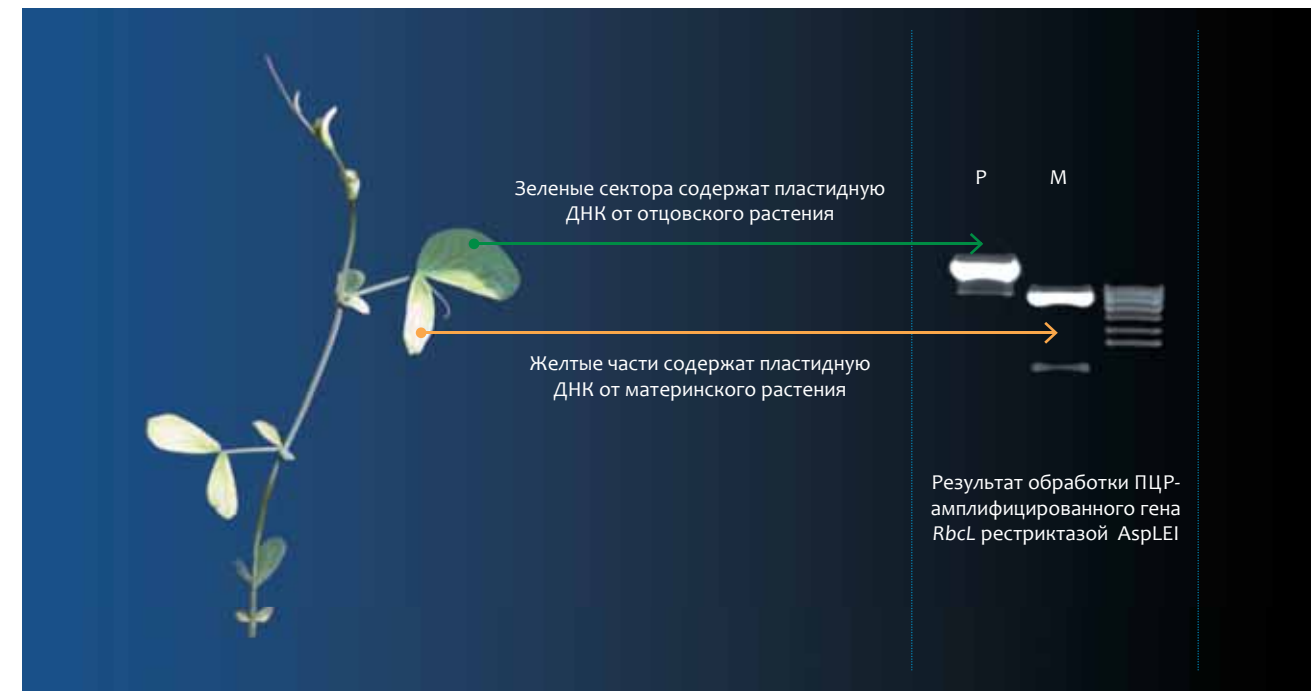


Рис. Мозаичный хлороз гибрида первого поколения от скрещивания ВИР320 с культурным горохом и CAPS-анализ пластидного гена *RbcL* из секторов листа: хлоротичного (материнский аллель) и зеленого (гетероплазмия с преобладанием отцовского аллеля).

мов у представителей рода горох (*Pisum* L.) выявил в каждом из них аллель, предковый для рода, и производный аллель, характерный для культурного гороха (*Pisum sativum* subsp. *sativum*). Мутационный переход между этими аллелями произошел внутри вида посевной горох (*Pisum sativum*) до его доместикации, поскольку все сочетания аллелей – предковое, производное и промежуточные – выявлены среди его дикорастущих представителей (*Pisum sativum* subsp. *elatius* s. l.). Географическое распространение аллелей свидетельствует о том, что вид возник в Восточном Средиземноморье, откуда распространился в Западное Средиземноморье, где возникли производные аллели и до сих пор распространены промежуточные сочетания аллелей. Носители производных аллелей заняли Северо-Восточное Средиземноморье включая Причерноморье, встретились с носителями диких аллелей в Малой Азии и дали начало культурному гороху.

Предложена гипотеза формирования В-хромосом на основе третичных трисомиков, начальные этапы которого промоделированы экспериментально. Транслокация Хаммер-

лунда у гороха (первая известная в истории генетики транслокация) приводит к образованию маленькой обменной хромосомы, составленной из коротких плеч хромосом. В потомстве гетерозигот по этой транслокации возникают жизнеспособные третичные трисомии, у которых к нормальному кариотипу добавлена обменная хромосома. В гомологичные ей плечи нормальных хромосом были введены летали, благодаря чему получена трисомная линия, размножающаяся в чистоте, поскольку эуплоидное потомство не образуется. В то же время в потомстве трисомиков возникают тетрасомии. У стабильных трисомиков в течение 11 поколений проведен отбор на плодовитость, давший быстрый ответ за счет мутаций, снижающих генный дисбаланс. В течение 16 дальнейших поколений ведется отбор на плодовитость для увеличения выхода таких мутаций, сопровождающийся обработкой малыми дозами химического мутагена. Нашей целью является «генетическое опустошение» экстрахромосомы, что позволило бы варьировать ее дозу в геноме, т. е. превратило в аналог природной В-хромосомы.



Заведующая К.К. Сидорова,
д.б.н., профессор
e-mail: sidorova@bionet.nsc.ru

сектор
СИМБИОГЕНЕТИКИ
БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ

Основное направление научных исследований

- Симбиогенетика и селекция бобовых растений на повышение азотфиксации.

Создана и генетически изучена коллекция симбиотических мутантов гороха. Выявлены новые симбиотические гены и установлена их хромосомная локализация. Изучены морфофизиологические особенности сум мутантов. Результаты многолетних исследований позволяют утверждать, что макросимбионт играет ключевую роль в генетическом контроле симбиотической азотфиксации в системе бобово-ризобияльного симбиоза и контролирует следующие признаки: 1 – способность растения к симбиозу с клубеньковыми бактериями *Rhizobium*; 2 – количество корневых клубеньков и их эффективность; 3 – активность азотфиксации, определяемая по активности нитрогеназы; 4 – продолжительность периода активной азотфиксации; 5 – количество корневой биомассы, в том числе бактериальной.

Проведены обширные исследования по влиянию генотипической среды на экспрессию генов супернодуляции. На основе этих данных разработана технология использования суперклубеньковых мутантов в селекции бобовых на повышение эффективности симбиоза.

Метод основан на взаимодействии в одном генотипе рецессивных и доминантных аллелей разных сум генов, *nod4* и *Nod5*, контролирующих супер- и гипернодуляцию.

Доказана возможность одновременно вести селекцию на повышение азотфиксации и продуктивности макросимбионта.

На основе двух коммерческих сортов гороха Дружная и Новосибирская 1 созданы рекуррентные линии седьмого поколения, отличающиеся сильной нодуляцией, активной азотфиксацией и высокой урожайностью зерна (рис. 1).

Активность азотфиксации, измеряемая по активности нитрогеназы, у всех рекуррентных линий была существенно выше, чем у сортов. Наиболее высокие показатели по активности азотфиксации были установлены у рекуррентных линий, при создании которых в качестве материнского растения использовали сорта Дружная и Новосибирская 1 (табл.).

Рекуррентные линии включены в селекционную проработку, выполняемую участниками комплексной программы – сотрудниками СибНИИРС СО РАСХН.

По показателям количества вегетативной биомассы корней и содержания в них азота рекуррентные линии значительно превышают коммерческие сорта гороха и являются отличными предшественниками для последующих культур (рис. 2).

Результаты исследований открывают перспективы новых генетико-селекционных технологий обеспечения растений азотом, что является важным для экологии и энергосбережения.

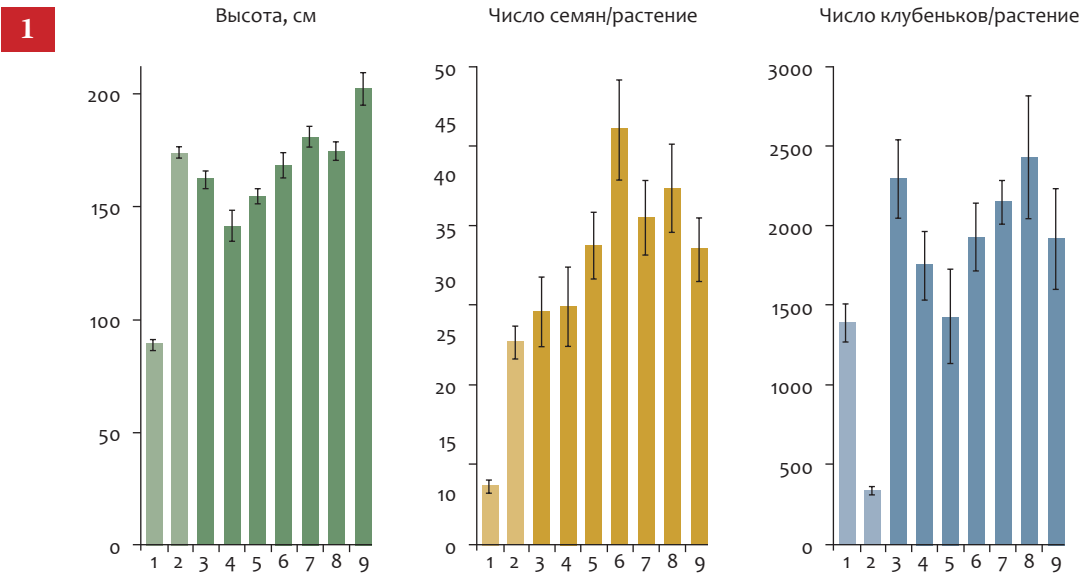
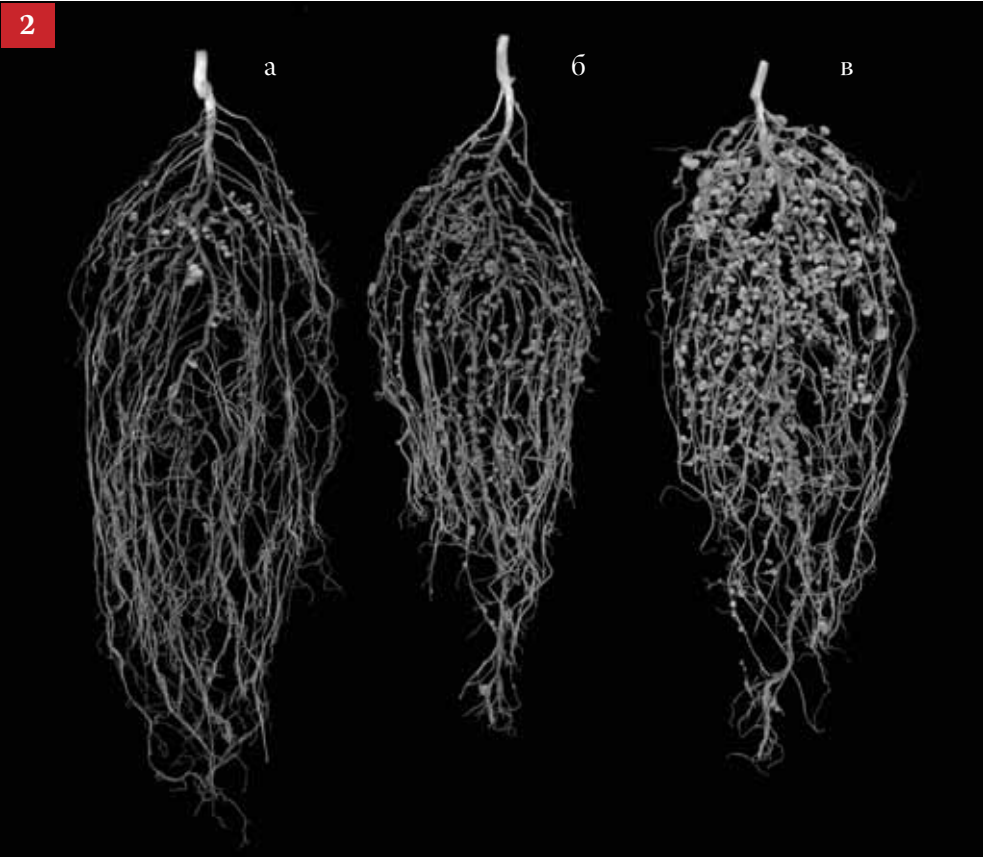


Таблица
Активность азотфиксации у сортов и рекуррентных линий

Мутант, сорт	Активность нитрогеназы, нмольC ₂ H ₄ /растение/ч	Рекуррентные линии	Активность нитрогеназы, нмольC ₂ H ₄ /растение/ч
Суперклубеньковый мутант К301	1242	К301 × Дружная	1123–1226
		Дружная × К301	2312–2380
Сорт Дружная	424	К301 × Новосибирская1	1235–2107
Сорт Новосибирская1	463	Новосибирская1 × К301	2399–2702

Рис. 1. Характеристика рекуррентных линий, полученных при скрещивании сорта Дружная с суперклубеньковым мутантом К301. 1 – мутант К301; 2 – сорт Дружная; 3–9 – рекуррентные линии, созданные при скрещивании сорта Дружная с мутантом К301.

Рис. 2. Корни гороха. а – сорт Дружная (*Nod5*); б – суперклубеньковый мутант К301а (*nod4*); в – рекуррентная линия К720а ультрасупер (*nod4 Nod5*).





лаборатория ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Заведующий А.В. Кочетов,

к.б.н., доцент

e-mail: ak@bionet.nsc.ru

Основные направления научных исследований

- Исследование молекулярно-генетических механизмов стрессоустойчивости растений. Цель работы заключается в исследовании генных сетей растений, контролирующих устойчивость к неблагоприятным факторам внешней среды, а также в разработке новых способов увеличения стрессоустойчивости. Работа проводится на генетических моделях – трансгенных растениях табака, картофеля и арабидопсиса.
- Исследование структурно-функциональной организации мРНК генов эукариот. Цель работы заключается в изучении структурно-функциональной организации эукариотических генов и разработке методов оптимизации экспрессии трансгенов в растениях. Работа проводится с помощью современных методов компьютерного анализа и биоинформатики.

Обнаружено, что гены экстраклеточных рибонуклеаз участвуют в молекулярных механизмах вирусостойчивости. Функции РНКаз, локализованных в апопласте, во многом остаются неясными. В лаборатории были разработаны генетические конструкции и получены трансгенные растения *Nicotiana tabacum*, характеризующиеся измененным уровнем рибонуклеазной активности. На рис. 1, а приведены спектры белков с РНКазной активностью в экстрактах линий растений, характеризующихся супрессированной активностью собственной РНКазы Nk1 (1), а также экспрессирующих дополнительный ген экстраклеточной РНКазы (3).

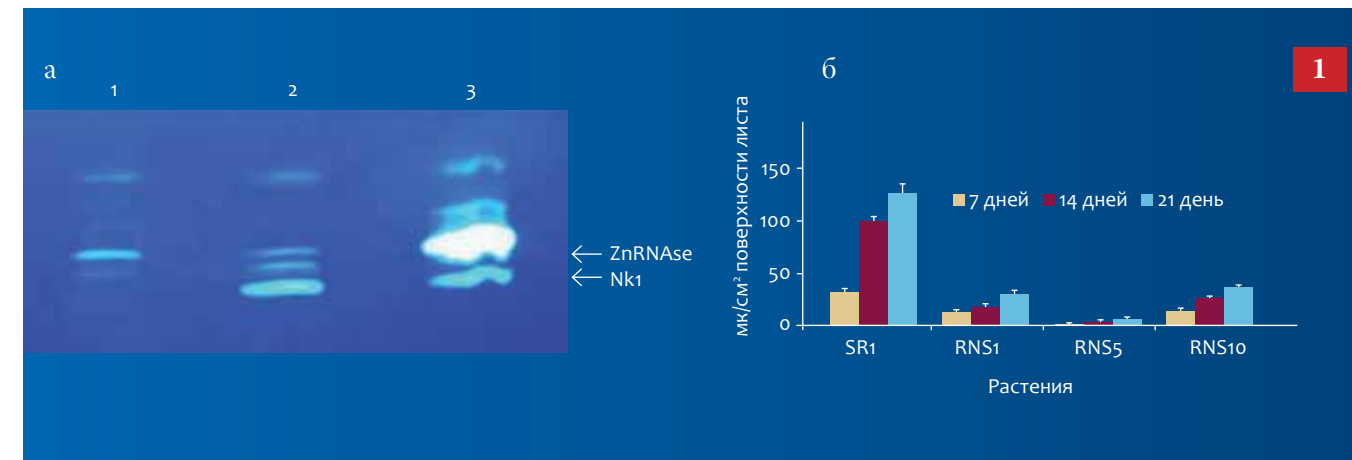
Анализ трансгенных растений показал, что изменение активности экстраклеточных рибонуклеаз не сопровождается морфофизиологическими различиями трансгенных и контрольных растений (Сангаев и др., Генетика, 2007, 2010). С помощью этих моделей было впервые показано, что экстраклеточные РНКазы участвуют в механизмах защиты от вирусов: в частности, растения табака с повышенным уровнем РНКаз характеризовались увеличенной устойчивостью к вирусам табачной мозаики (рис. 1, б) и ожога гречихи (Trifonova *et al.*, Plant Cell Rep., 2007; Biol. Plantarum, 2011; Burundukova *et al.*, Biol. Plantarum, 2009; Spivak *et al.*, 2010). Предложены новые способы

получения вирусоустойчивых форм растений.

Исследована генная сеть, контролирующая синтез пролина. Для этого был получен набор генетических конструкций, изменяющих уровни экспрессии генов пролиндегидрогеназы, орнитинаминотрансферазы, пирролин-5-карбоксилатсинтазы. Впервые показано, что частичная супрессия гена пролиндегидрогеназы, контролирующего деградацию пролина, увеличивает неспецифическую устойчивость растений табака и картофеля к стрессовым воздействиям различной природы (засухе, засолению, высокой температуре, солям тяжелых металлов, фитофторе) (Колодяжная и др., Генетика, 2006, 2007; Ибрагимова и др., Физиология растений, 2011). Выдвинуто предположение о важности защитного действия пролина на самых ранних этапах стресса. Предложены новые способы получения стрессоустойчивых форм растений. Обнаружено, что ген орнитинаминотрансферазы может быть задействован в контроле взаимосвязи между устойчивостью к абиотическим стрессам и метаболизмом азота у растений (Герасимова и др., Генетика, 2010, 2011).

Проведен цикл работ по изучению сигналов, контролирующих экспрессию генов эукариот на посттранскрипционном уровне.

Было показано существование взаимосвязи между структурой мРНК и уровнем экспрессии эукариотических генов (Kochetov *et al.*, FEBS Lett., 1998). На основе этих данных была создана первая компьютерная



система (Leader_RNA), позволяющая предсказывать эффективность трансляции мРНК в клетках высших растений и млекопитающих на основе анализа контекстных характеристик лидерного района (Kochetov *et al.*, Bioinformatics, 1999).

Выдвинуто предположение о сложной структуре эукариотического сигнала инициации трансляции, который может включать несколько альтернативных стартовых кодонов (Kochetov *et al.*, Bioinformatics, 2005). Показано, что около 10 % мРНК эукариот могут кодировать две (и более) изоформы аннотированных белков, различающиеся по структуре N-концевого домена и предсказанной субклеточной локализации (Kochetov *et al.*, Mol. Genet. Genom., 2005; BioEssays, 2008; FEBS Lett., 2008), что подтверждается эволюционной консервативностью альтернативных сайтов инициации трансляции (Bazykin, Kochetov, NAR, 2011).

Охарактеризована структурно-функциональная организация эукариотического сигнала инициации трансляции. Впервые показано, что специфически позиционированные элементы вторичной структуры РНК могут усиливать эффективность «слабых» сайтов инициации трансляции. Разработан метод для предсказания таких сигналов (Kochetov *et al.*, BMC Bioinf., 2007). Обнаружено, что величина физико-химической характеристики, «размер поверхности, доступной для взаимодействия» (accessible surface area, ASA), является контекстно-зависимой, и триплеты в составе РНК различаются по этому параметру (рис. 2) (Singh *et al.*, Gene, 2010). Обнаружено, что AUG характеризуется высоким значением параметра

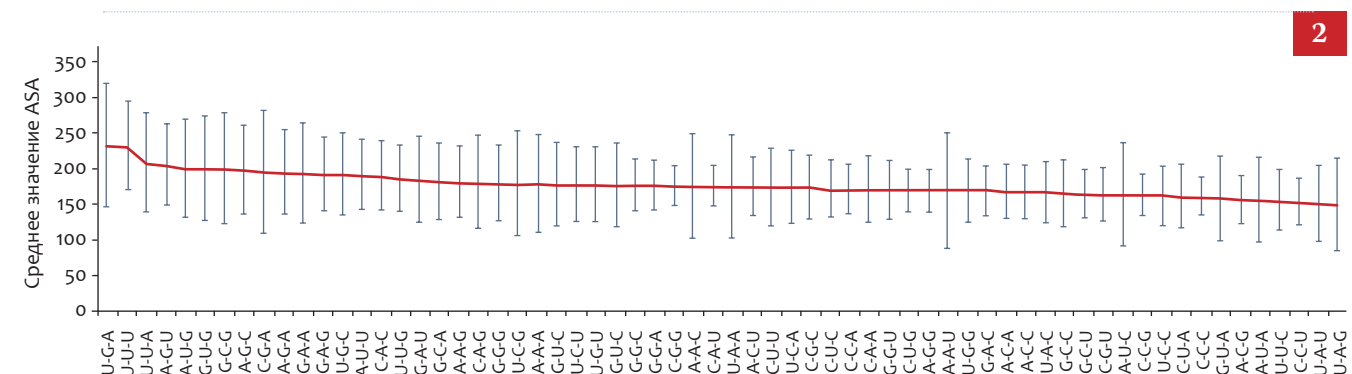
ASA, что могло служить одной из причин выбора именно этого триплета в качестве инициаторного кодона трансляции на ранних этапах эволюции жизни.

Обнаружено, что существуют взаимосвязи между типом аминокислоты во второй позиции белка и 5'-концевым (некодирующим) участком контекста инициаторного кодона. Выдвинуто предположение о том, что тип аминокислоты во второй позиции белка может оказывать влияние на эффективность формирования первой пептидной связи (Volkova, Kochetov, J. Biomol. Struct. Dynam., 2010).

Найдено, что тандемные стоп-кодоны могут использоваться в качестве «усиленных» терминаторов трансляции в тех случаях, когда структура С-концевого участка белка не способствует эффективной терминации (Kochetov *et al.*, Gene, 2011).

Рис. 1. а – фореграмма белков с РНКазной активностью в экстрактах из листьев растений *Nicotiana tabacum*. 1 – растение табака с супрессированным геном РНКазы Nk1; 2 – нетрансгенное растение; 3 – растение, экспрессирующее трансген экстраклеточной РНКазы *Zinnia elegans*; б – концентрация антигена вируса табачной мозаики в листьях контрольных (SR1) и трансгенных (RNS) линий через 7, 14 и 21 день после инокуляции (DAI).

Рис. 2. Средние значения параметра Accessible Surface Area (ASA) контекстно зависимы.





Заведующая Е.В. Дейнеко,
д.б.н., профессор
e-mail: deineko@bionet.nsc.ru

лаборатория
БИОИНЖЕНЕРИИ РАСТЕНИЙ

- Основные направления научных исследований
- Получение рекомбинантных белков медицинского назначения в трансгенных растениях.
 - Анализ функционирования чужеродных генов в новом окружении растительного генома.
 - Изучение Т-ДНК-инсерций на экспрессию собственных генов у трансгенных растений.

В лаборатории разрабатывается технология получения рекомбинантных белков медицинского назначения на основе трансгенных растений (ядерная и хлоропластная трансформация), суспензионных культур растительных клеток, а также транзientной экспрессии трансгенов (агроинфильтрация). Разработана технология создания трансгенных растений моркови – продуцентов иммуномодулирующих белков – интерлейкинов 10 и 18 человека (рис. 1). (Соисполнители: Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН; Институт клинической иммунологии СО РАМН). Получены трансгенные растения моркови, продуцирующие белки оболочек вируса гепатита В и возбудителя туберкулеза *Micobacterium tuberculosis*. Предполагаются постоянное расширение и оптимизация разрабатываемой технологии за счет расширения спектра целевых генов. Работы выполняются в рамках базового проекта «Генетически модифицированные растения и животные как продуценты фармакологически ценных белков» (Приоритетное направление РАН VI.51.; Программа СО РАН VI.51.1.5.) и проекта № 7 «Разработка генно-инженерной платформы нового поколения для экспрессии целевых генов в составе внеядерных геномов клеток» (междисциплинарные интеграционные проекты СО РАН).
Выполняются работы по анализу функционирования чужеродных генов, интегрированных в геном

растений. Продолжаются исследования влияния дупликаций в составе Т-ДНК на стабильность экспрессии маркерного гена *nptII* у трансгенных растений модельной линии табака, характеризующихся мозаичностью его проявления. Выявляются особенности организации и нуклеотидный состав Т-ДНК-инсерции (рис. 2), а также районов растительной ДНК, фланкирующих вставку. Выявляются молекулярно-генетические механизмы инактивирования/реактивирования гена *nptII*, в том числе участие в этом процессе коротких интерферирующих РНК.
Проводятся исследования влияния инсерций Т-ДНК на экспрессию собственных генов у генетически модифицированных растений. Создана коллекция трансгенных растений табака (*Nicotiana tabacum* L.) с мутантным фенотипом (измененное строение цветка, пониженный уровень фертильности пыльцы). Продолжаются работы по выявлению причин, приводящих к наблюдаемым отклонениям: цитологический анализ аномалий мейоза в материнских клетках пыльцы, иммуоферментный анализ содержания фитогормонов, а также молекулярный анализ *FZY*-генов, кодирующих ключевой фермент биосинтеза ауксинов (рис. 3). Исследуется возможная связь аномалий мейоза с нарушениями динамики тубулинового и актинового цитоскелетов.

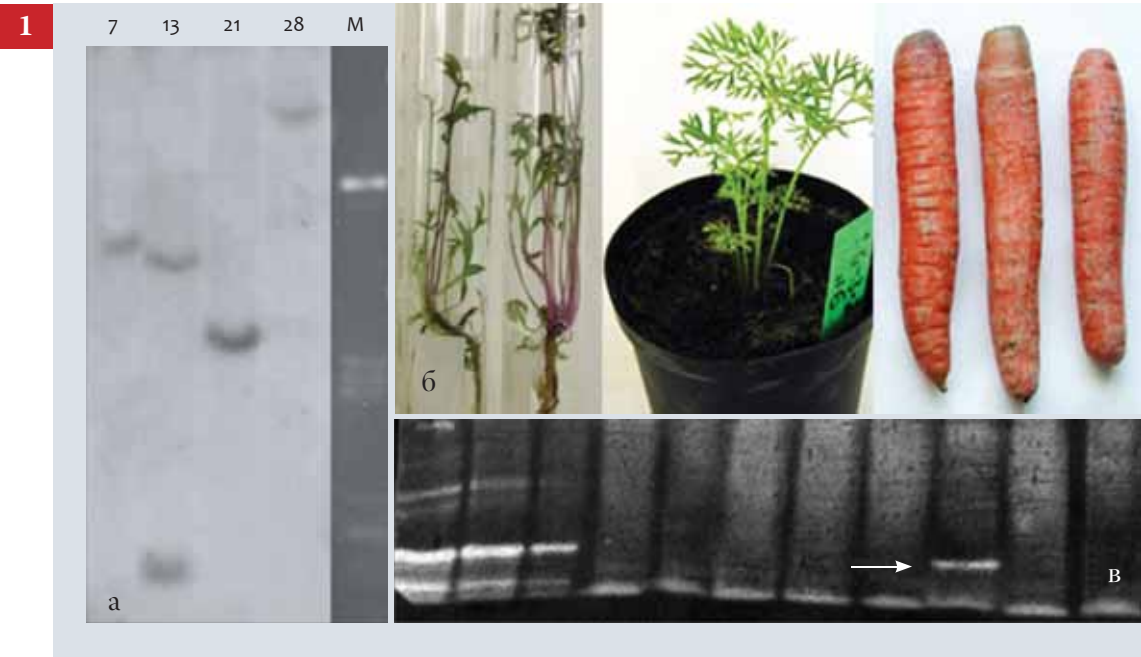
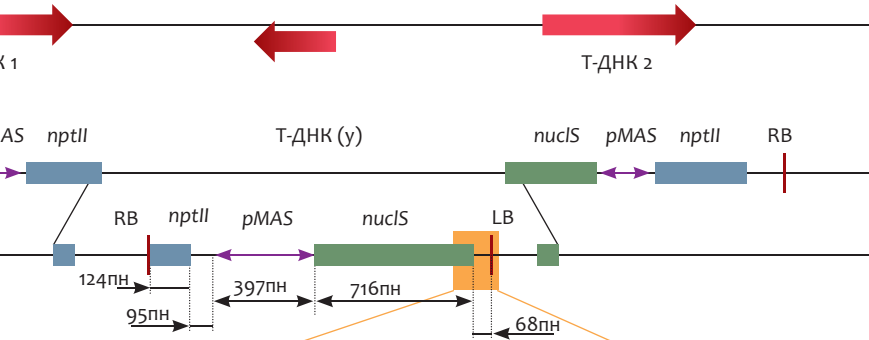


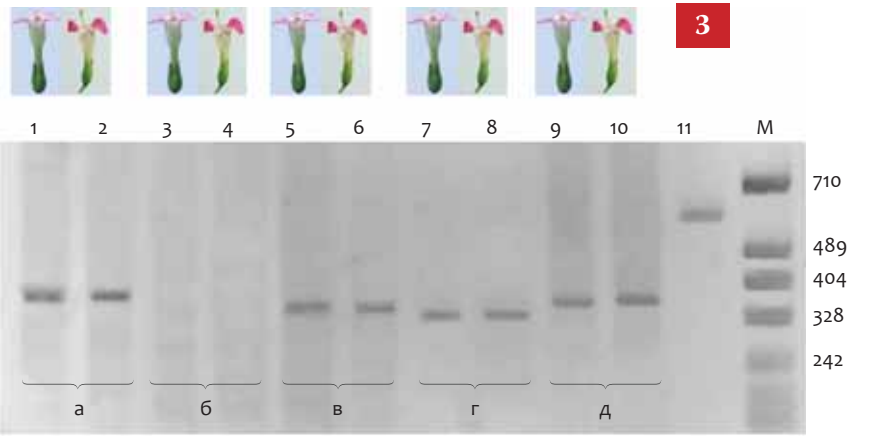
Рис. 1. Технология создания трансгенных растений моркови.
а – Саузерн-блот гибридизация геномных ДНК трансгенных растений с ³²P меченным фрагментом кДНК гена ИЛ-18;
б – этапы получения трансгенных растений моркови; в – Вестерн-блот анализ трансгенных растений моркови (стрелкой указан фрагмент, соответствующий ИЛ-18 человека).

Рис. 2. Схема организации Т-ДНК-встройки в геноме растений линии табака с мозаичным проявлением *nptII*-гена. *nuclS* – ген секреторной эндонуклеазы *Serratia marcescens*; *nptII* – ген неомицинфосфотрансферазы II *E. coli*; *pMAS* – двунаправленный промотор гена маннопинсинтазы *Ti*-плазмиды *Agrobacterium tumefaciens*; В, RB – повторы, ограничивающие Т-область *Ti*-плазмиды *A. tumefaciens*.

Рис. 3. Результат электрофоретического разделения в 2 %-м агарозном геле фрагментов ДНК, полученных после ПЦР-реакций с праймерами к генам *ToFZY2* – *ToFZY6* томатов.
1, 3, 5, 7, 9 – линия SR1 (контроль); 2, 4, 6, 8, 10 – линия IF 4/11; 11 – фрагмент гена *NiGA2* из генома табака.
а – праймеры *FZY6*up и *FZY6*lo; б – праймеры *FZY5*up и *FZY5*lo; в – праймеры *FZY4*up и *FZY4*lo; г – праймеры *FZY3*up и *FZY3*lo; д – праймеры *FZY2*up и *FZY2*lo.



nuclS
AGAAACGACCGGCTGATCATCAAAAGGG GAATATCTTC AAAACCTTGT
GTAACCTTTC AAAAGGGGAA TATCTTCAAA ACCTTGCTGA A TATTCAATT
LB





Заведующий А.В. Железнов, д.с.-х.н.
e-mail: zheleznov@bionet.nsc.ru

лаборатория
ГЕНОФОНДОВ И ГЕНЕТИКИ
СИСТЕМ РАЗМНОЖЕНИЯ
РАСТЕНИЙ

- Основные направления научных исследований
- Формирование, изучение и использование генофондов.

К настоящему времени сформированы уникальные коллекции кормовых и лекарственных растений, насчитывающие 10 тыс. образцов, принадлежащих к 113 видам из 17 семейств. Источниками для формирования коллекций являются дикорастущая и культурная флора Сибири, экспериментальное получение новых форм растений (мутанты, самоопыленные линии, гибриды) и заимствование коллекций из других научных учреждений. Уникальность этих коллекций состоит в том, что образцы собраны на огромных пространствах Западной и Восточной Сибири, на которых возникла флора, достаточно богатая по своему видовому и популяционному составу. Собранные образцы кормовых и лекарственных растений сохраняются в банке семян и живых коллекциях. Все образцы, как правило, изучаются в полевых условиях и лабораторных опытах. Благодаря такому изучению для большинства видов установлены границы изменчивости многих признаков. Это, в свою очередь, позволило выделить доноры хозяйственно ценных признаков. Такими донорами являются выделенные солеустойчивые формы люцерны и амаранта, некоторые виды донника с исключительно низким содержанием кумарина, хорошо облиственные формы костреца безостого, высокозимостойкие формы озимой пшеницы, устойчивые к листовой ржавчине, формы амаранта с высоким содержанием масла и сквалена в семенах, скороспелые формы люпина узколистного и др.

При изучении определенное внимание уделяется корреляционному и многомерному анализу морфологических, химических и хозяйственных признаков. Так, корреляционный анализ 10 признаков амаранта позволил установить коэффициенты корреляции между всеми возможными сочетаниями изучаемых признаков и показать различную силу связей одних признаков по сравнению с другими. Выявлено, что самоопыленные потомства отдельно взятого образца имеют специфическую структуру корреляционных

отношений и что признаки одной функциональной группы могут комплексоваться в отдельные блоки, называемые корреляционной плеядой. Изучена также дивергенция корреляционных структур на внутрипопуляционном, внутривидовом и межвидовом уровнях. Установлены критерии дивергенции корреляционных структур для указанных систематических категорий. Показано, что КДК видов в 1,5–2 раза выше, чем КДК образцов, и в 5–6 раз выше, чем КДК линий. Степень дивергенции корреляционных структур у разных видов может различаться в зависимости от их филогенетического родства и соотношений внутри вида.

С помощью многомерного анализа выявлены основные направления совокупной изменчивости, в том числе дискриминантное, характеризующее изменчивость между подродами. Его можно интерпретировать как противоположность между «зерновым» и «кормовым» направлениями.

В лаборатории наряду с изучением морфологических и хозяйственных признаков проводятся исследования по выявлению генетической изменчивости структурных белков и изоферментов. Методом электрофореза в полиакриламидном геле показано, что белки семян амаранта гетерогенны и состоят из 38 компонентов, которые по убыванию электрофоретической подвижности условно разделены на 4 зоны. Установлено, что виды амаранта различаются по спектрам запасных белков семян. Эти различия в одних случаях ограничены одними и теми же вариантами запасного белка, в других – числом вариантов.



Изучение электрофоретических спектров алкогольдегидрогеназы, глутаматдегидрогеназы, малатдегидрогеназы, изоцитратдегидрогеназы и малик энзима позволило установить генетический контроль вышеуказанных ферментов и выявить низкую аллозимную изменчивость в исследованном материале. Наши данные подтвердили общее положение о мономорфизме как природном явлении, выдвинутое Ю.П. Алтуховым. Полученные данные положены в основу дальнейших исследований по интродукции и селекции амаранта.

В лаборатории проводятся исследования механизмов опыления и образования семян у ряда культивируемых растений. Так, у гречихи посевной и люцерны вскрыты возможности генетической реконструкции структурной организации цветка и получены новые формы растений с высоким уровнем самофертильности. Изучена генетическая структура локуса S, контролирующего легитимный тип опыления у видов гречихи, выделены четыре новых аллеля этого локуса, детерминирующих признак самофертильности у разных по структуре цветка форм гречихи. Рассмотрены генетическая схема эволюции этого локуса и филогенетическая схема системы размножения видов у этого рода.

Изучено образование семян у трех видов амаранта, *A. cruentus*, *A. caudatus* и *A. lividus*, при самоопылении и перекрестном опылении. Показано, что популяции этих видов состоят из самостерильных и самофертильных растений, причем большая часть популяции представлена самостерильными растениями. Уровень образования семян определяется видовой спецификой растений, влиянием условий выращивания растений и инбредной депрессией. Из этих факторов самое сильное влияние на образование семян имеют условия выращивания растений.

На основе сформированных коллекций проводятся интродукционные исследования и селекция некоторых видов растений. По существу, все ввозимые образцы являются интродуцентами. Среди них отобраны перспективные. К числу последних относятся различные виды амаранта и люпин узколистный. Успешность интродукции амаранта подтверждена авторскими свидетельствами на сорта, созданные в лаборатории и включенные в Государственный реестр селекционных достижений РФ. Люпин узколистный проходит экологическое испытание в различных зонах Сибири. Разработан метод создания сортов картофеля, устойчивых к ризоктониозу (*Rhizoctonia solani*). Путем межвидовых скрещиваний эспарцета песчаного (*Onobrychis arenaria*) с эспарцетом закавказским (*Onobrychis transcaucasica*) был получен новый сорт эспарцета, который в настоящее время включен в реестр селекционных достижений России и рекомендован для возделывания в Алтайском крае и Новосибирской области (рис. 1). В настоящее время ведутся работы по созданию сорта ячменя, сочетающего признаки голозерности и безостости. Создание такого сорта открывает возможности одновременного использования в производстве крупы наилучшего качества и использования полумы и соломы для корма скоту.

Поиск альтернативных источников целлюлозы является одной из актуальных проблем современной биологии. Лаборатория подключилась к решению этой проблемы. Скрининг 32 образцов различных видов растений показал, что существует значительная межвидовая изменчивость по содержанию целлюлозы в сухом веществе растений. Было показано также, что выход целлюлозы с единицы площади зависит не только от ее содержания, но и от урожайности и содержания сухого вещества (табл.) (рис. 2).

Рис. 1. Новый сорт эспарцета Алтайский.
Рис. 2. Канареечник тростниковидный (*Phalaris arundinacea* L.) – один из альтернативных источников целлюлозы.

Таблица. Выход сухого вещества и целлюлозы с 1 га посева

Вид, образец	Урожай зеленой массы, ц/га	Сухое вещество, %	Выход сухого вещества, ц/га	Целлюлоза, %	Выход целлюлозы, ц/га
Канареечник ИЦИГ 120	640	36,8	235,5	49,8	117,2
Канареечник ИЦИГ 122	550	31,1	171,0	48,6	83,1
Канареечник ИЦИГ 123	380	35,6	135,3	49,8	67,3
Канареечник ИЦИГ 121	600	35,7	214,2	45,5	97,4
Овсяница ИЦИГ 25	690	25,0	172,5	46,4	80,0
Овсяница ИЦИГ 5	450	28,6	128,7	50,8	59,7
Овсяница ИЦИГ 6	590	22,9	135,1	50,5	68,2
Мискантус китайский	260	37,0	96,2	44,0	42,3



Заведующий В.Е. Козлов,
к.б.н., с.н.с.
e-mail: kozlov@bionet.nsc.ru

лаборатория
ПРИКЛАДНОЙ
АГРОБИОТЕХНОЛОГИИ
РАСТЕНИЙ

Основные направления научных исследований

- Исследование механизмов формирования высокой зимостойкости у озимой пшеницы и ее сочетаемости с высокой выраженностью остальных хозяйственно ценных признаков, присущих сортам.
- Экспериментальная проверка получаемых научных обобщений. Передача в Государственное сортоиспытание наиболее перспективных образцов озимой пшеницы, создаваемых в лаборатории, а также коллекции форм яровой пшеницы и люцерны, имеющих в настоящее время в лаборатории.
- Исследование передачи озимой пшенице устойчивости к различным неблагоприятным факторам среды от ее дикого сородича пырея сизого.
- Размножение элитных семян образцов, получивших статус сортов.

Показана двухэтапность отбора озимой пшеницы на высокую зимостойкость в полевых условиях – отбор на высокую выживаемость под глубоким снежным покровом не менее двух лет, а затем отбор на морозостойкость под минимальным снежным покровом в течение 2 лет.

Осуществлена успешная экспериментальная проверка двухэтапного способа создания зимостойких сортов пшеницы для условий Сибири. В результате был получен ряд высокозимостойких сортов озимой мягкой пшеницы: Лютесценс 4, Кулундинка, Багратионовская, Новосибирская 9, Новосибирская 32, Новосибирская 40, Новосибирская 51, Филатовка, Бийская озимая, Заларинка, Иркутская озимая.

Рис. 1. Авторы сортов озимой пшеницы В.М. Чекуров (слева), В.В. Козлов (справа) на экспериментальном поле ИЦиГ СО РАН вместе с бывшим первым секретарем Новосибирского обкома КПСС А.П. Филатовым, оказавшим большую поддержку работам ИЦиГ СО РАН по озимой пшенице.

Рис. 2. Экспериментальное поле ИЦиГ СО РАН.
а – растения озимой пшеницы позднего, сентябрьского, срока сева в ноябре при отсутствии снега и начавшихся морозах – трещины в почве; б – то же экспериментальное поле. Посевы озимой пшеницы в июле.



ЦЕНТРЫ КОЛЛЕКТИВНОГО ПОЛЬЗОВАНИЯ

На базе Института функционирует 14 центров коллективного пользования внутри- и межинститутского статуса, предоставляющих услуги научным подразделениям Института, научным организациям СО РАН и других ведомств, учебным заведениям:

- ЦКП микроскопического анализа биологических объектов;
- ЦКП секвенирования ДНК;
- ЦКП «Центр геномных исследований»;
- ЦКП «ПЦР в реальном времени»;
- ЦКП по синтезу олигонуклеотидов и их аналогов;
- ЦКП «Центр клеточных технологий»;
- ЦКП проточной цитометрии;
- ЦКП «Протеомика»;
- ЦКП «Биоинформатика»;
- ЦКП «SPF-виварий»;
- ЦКП «Генофонды лабораторных животных»;
- ЦКП «Генофонды пушных и сельскохозяйственных животных»;
- ЦКП «Лаборатория искусственного выращивания растений»;
- ЦКП «Селекционно-генетическая лаборатория».

Центры коллективного пользования позволили укомплектовать приборный парк современным оборудованием, что существенно расширило возможности экспериментальных исследований, проводимых в Институте, и обеспечило более высокий уровень их выполнения. Более детальная информация по ЦКП ИЦиГ СО РАН содержится в специальном выпуске журнала «Живая наука».

ДИССЕРТАЦИОННЫЙ СОВЕТ

В Институте работает Диссертационный совет по защите докторских диссертаций Д 003.011.01 (утвержден ВАК 15.01.2010, приказ ВАК № 1-7), принимающий к защите работы по трем специальностям: «генетика» (03.02.07), «клеточная биология, цитология, гистология» (03.03.04) и «математическая биология, биоинформатика» (03.01.09).

ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ

Первостепенное значение в Институте уделяется подготовке высококвалифицированных научных кадров. Академики В.К. Шумный, Н.А. Колчанов, Л.Н. Иванова заведуют кафедрами цитологии и генетики, информационной биологии, физиологии в Новосибирском государственном университете. Около 70 сотрудников Института преподают в НГУ и других вузах. Ежегодно на базе Института выполняют курсовые и дипломные работы свыше 80 студентов четырех кафедр НГУ: цитологии и генетики, молекулярной биологии, физиологии, информационной биологии. В Институте функционируют учебно-научный центр «Генетика» и три научно-образовательных центра: НОЦ «Клеточная биология и генетика», НОЦ «Молекулярная биология и биоинформатика», НОЦ «Физиологическая генетика и биомедицина». Послевузовское обучение в аспирантуре осуществляется по 6 специальностям: молекулярная биология (03.01.03), биохимия (03.01.04), генетика (03.02.07), математическая биология, биоинформатика (03.01.09); физиология (03.03.01), клеточная биология, цитология, гистология (03.03.04). По указанным специальностям в аспирантуру Института в 2006–2010 гг. зачислено 138 человек. Институт предоставляет возможности для стажировки студентам и аспирантам из вузов и НИИ других регионов России и зарубежья.

На базе Института работает лаборатория экологического воспитания (СЮН), сотрудники которой ведут просветительскую работу со школьниками от 7 до 16 лет, способствуя их приобщению к научно-техническому творчеству в области биологии и воспитанию у них бережного отношения к природе. Общее число учащихся составляет около 350 человек. Проводятся практические работы, ежегодные летние научно-исследовательские экспедиции, районные конкурсы. Работы школьников неоднократно отмечались дипломами, медалями, почетными грамотами и благодарностями.

СОВЕТ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ

Этот выборный орган представляет интересы молодых ученых в Ученом совете и дирекции Института. Основную свою функцию Совет видит в создании условий для активной научной деятельности молодых ученых и их профессионального роста.

В рамках своей деятельности СМУ поддерживает командировки молодых ученых, проводит при финансовой поддержке дирекции конкурсы научных публикаций молодых сотрудников и аспирантов, организует для них курсы лекций и семинары, а также занимается другими вопросами, актуальными для молодых сотрудников. Значительное место Совет уделяет пропаганде и популяризации науки через организацию Дней открытых дверей в ИЦиГ и чтение лекций в школах.

ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ

Институт является соучредителем и издателем входящего в список ВАК журнала «Вавиловский журнал генетики и селекции» (ранее «Информационный вестник ВОГиС»). Журнал публикует работы по всем разделам генетики, селекции и смежных с ними биологических наук. С 2011 г. журнал выходит в издательстве «Springer Science» под названием «Russian Journal of Genetics: Applied Research». Регулярно издается журнал «Живая наука», освещающий различные стороны деятельности Института.

БИБЛИОТЕКА

Начало библиотечному фонду было положено переданной в дар Институту личной библиотекой знаменитого российского генетика А.С. Серебровского. В настоящее время Институт располагает обширной библиотекой, содержащей 117 829 единиц хранения, в том числе 26 073 книг (из них 4 545 иностранных) и 91 239 журналов (из них 29 232 иностранных). Фонд укомплектован изданиями по биологии, медицине, химии, математике, физике, философии, а также словарями, справочниками и энциклопедиями.

Оборудование читального зала современными компьютерами с возможностью выхода в Интернет дает доступ к удаленным отечественным и зарубежным библиографическим источникам.

НАУЧНЫЕ МЕРОПРИЯТИЯ

Под эгидой ИЦиГ регулярно проходят собирающие значительное число участников российские и международные съезды, симпозиумы, конференции, семинары, школы молодых ученых. Среди них особое место занимает крупная мультидисциплинарная Международная конференция «Биоинформатика регуляции и структуры генома» (Bioinformatics of Genome Regulation and Structure – BGRS), которая с 1998 г. проводится каждые два года. К настоящему времени прошло 7 конференций, следующая состоится в 2012 г. Ежегодно проводятся Международные школы молодых ученых по суперкомпьютерным вычислениям. С 2010 г. проводится конференция «Генетика, геномика и биотехнология растений». Для знакомства научной общественности с новыми достижениями в области современного научного приборостроения, лабораторного оборудования, производства химических реактивов в Институте систематически проводятся выставки, семинары и презентации отечественных и зарубежных компаний, разрабатывающих программные и технические средства, приборное оснащение, методы и реактивы для экспериментальных и компьютерных исследований.

ПУБЛИКАЦИИ

Высокий уровень проводимых в Институте исследований подтверждается публикациями в рейтинговых научных изданиях. В период 2006–2010 гг. вышло 3428 печатных работ, в том числе 973 статьи в рецензируемых отечественных журналах, 604 статьи в рецензируемых зарубежных журналах и сборниках, 24 монографии, 56 глав в книгах, 20 учебников и учебно-методических пособий.

В 2006–2010 гг. Институт принял участие в работе 14 международных выставок с экспозицией законченных работ (из них 7 проводились за рубежом).

МЕЖДУНАРОДНЫЕ НАУЧНЫЕ СВЯЗИ

Исследования во многих лабораториях ИЦиГ проводятся совместно с зарубежными учеными в рамках реализации международных программ и двусторонних договоров. За 2006–2010 гг. работы выполнялись по 27 международным грантам и на основе соглашений с 40 зарубежными партнерами. Широкая география международных контактов включает страны как дальнего, так и ближнего зарубежья. Институт активно сотрудничает с лабораториями, институтами, университетами Англии, Бразилии, Германии, Китая, Сингапура, США, Финляндии, Франции, Швеции, Японии, Республики Беларусь, Республики Казахстан, Украины, Таджикистана и др.

Ежегодно Институт принимает около 100 зарубежных ученых, приезжающих для выполнения совместных исследований, участия в проводимых Институтом мероприятиях или для ознакомления с различными аспектами деятельности Института.

Сотрудники Института, в свою очередь, выезжают в заграничные командировки для работы, чтения лекций или участия в международных научных форумах. За 2006–2010 гг. за рубежом побывали более 500 человек.

СОТРУДНИЧЕСТВО С НАУЧНЫМИ
УЧРЕЖДЕНИЯМИ И ОРГАНИЗАЦИЯМИ

Институт активно сотрудничает с Институтами РАН (ИОГен, ИБР, ИПЭЭ РАН, ИФБРМ РАН, ИЭФБ РАН и др.); СО РАН (ИХБФМ, ИСЭЖ, НИОХ, ИМ, ИФП, ИЛФ, ИТПМ, КТИВТ, ИТФ, ИГиМ, МТЦ, ИБПК, ИГ, ИЯФ и др.); Институтами прочих отделений РАН (УрО РАН, ДВО РАН, УфО РАН); НИЦ «Курчатовский институт»; организациями сельскохозяйственного профиля (ВНИИР им. Н.И. Вавилова РАСХН, ВНИИ ЗР РАСХН, СибНИИРС РАСХН, ГНУ СибНИИСХ СО Россельхозакадемии, ГНУ Агротехнический НИИ РАСХН, СибФТИ СО РАСХН, ГНУ НИИ садоводства Сибири им. М.А. Лисавенко и др.); медико-биологическими учреждениями (ИКМ СО РАМН, ИФХМ РАМН, ИКИ СО РАМН, ГУ НИИ МГ ТНЦ СО РАМН, ГУ НИИКиЭЛ СО РАМН, ИТ СО РАМН, НЦ КиЭМ СО РАМН, ИФ СО РАМН; ФРУ НИИТО, НИИ ПК им. академика Е.Н. Мешалкина, ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» и др.); с вузами (КГУ, МГУ, ТГУ, НИИ митоинженерии МГУ, Медицинский институт Северо-Восточного федерального университета, НГАУ, НГМУ, ОГМА, ТГМА и др.).

ПАТЕНТНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ
И ЗАКОНЧЕННЫЕ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЕ РАЗРАБОТКИ

Наряду с фундаментальными исследованиями в Институте большое место занимают прикладные разработки. Приоритетность наиболее важных и перспективных результатов защищается патентами и авторскими свидетельствами. За 2006–2010 гг. получено 18 патентов на изобретения; 4 патента на селекционные достижения; 3 свидетельства об официальной регистрации в Госреестре селекционных достижений, допущенных к использованию; зарегистрировано в Роспатенте 34 программы для ЭВМ и баз данных. Среди них – патенты и авторские свидетельства на норки оригинальных окрасочных форм, сорта растений, лекарственные препараты, тест-системы, генетические модели, программное обеспечение и др.

ВНЕБЮДЖЕТНОЕ ФИНАНСИРОВАНИЕ

Помимо бюджетных проектов в 2006–2010 гг. Институт выполнял работу по 716 грантам, проектам и контрактам, в том числе по грантам РФФИ, РГНФ, Президента РФ, Президентской программы поддержки молодых ученых и ведущих научных школ, Фонда содействия отечественной науке, мэрии г. Новосибирска; по проектам Федеральной целевой научно-технической программы РФ, Интеграционным проектам СО РАН, проектам Программ Президиума РАН, международным проектам и др.

Представленные в буклете материалы дают достаточно полное, но далеко не исчерпывающее представление о разносторонней деятельности Института.

Дополнительную информацию можно получить на официальном сайте ИЦиГ СО РАН www.bionet.nsc.ru.

ДИРЕКЦИЯ ИЦиГ СО РАН



Директор Института
академик РАН Колчанов
Николай Александрович
телефон: +7(383) 363-49-80
телефон: +7(383) 333-34-68
факс: +7(383) 333-12-78
e-mail: kol@bionet.nsc.ru



Заместитель директора
по научной работе
д.б.н. Рубцов Николай Борисович
телефон: +7(383) 363-49-81
e-mail: rubt@bionet.nsc.ru



Заместитель директора
по научной работе
д.б.н. Мордвинов
Вячеслав Алексеевич
телефон: +7(383) 363-49-98
e-mail: mordvin@bionet.nsc.ru



Заместитель директора
по научной работе
к.б.н. Вепрев Сергей Григорьевич
телефон: +7(383) 363-49-82
e-mail: veprev@bionet.nsc.ru



Заместитель директора по вопросам
инновационной деятельности
к.б.н. Пельтек Сергей Евгеньевич
телефон: +7(383) 363-49-97
e-mail: peltek@bionet.nsc.ru



Заместитель директора
по общим вопросам
Лаврюшев Сергей Вячеславович
телефон: +7(383) 363-49-83
e-mail: svl@bionet.nsc.ru



Ученый секретарь
к.б.н. Орлова Галина Владимировна
телефон: +7(383) 363-49-85
e-mail: gorlova@bionet.nsc.ru



Ученый секретарь
по международным связям
к.б.н. Киселева Галина Николаевна
телефон: +7(383) 363-49-87
e-mail: kiseleva@bionet.nsc.ru



Советник РАН, академик РАН
Шумный Владимир Константинович
телефон: +7(383) 363-49-91
e-mail: shumny@bionet.nsc.ru



Советник РАН, академик РАН
Иванова Людмила Николаевна
телефон: +7(383) 330-74-74
e-mail: ludiv@bionet.nsc.ru

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЕНЕТИКА ЖИВОТНЫХ	
Лаборатория эволюционной генетики	8
Отдел генофондов экспериментальных животных	
• Лаборатория экологической генетики млекопитающих	10
• Сектор криоконсервации и репродуктивных технологий	14
• Сектор генетики кунных	16
Лаборатория рекомбинационного и сегрегационного анализа	18
Лаборатория генетики развития	20
Лаборатория генетики стресса	22
Лаборатория генетики популяций	24
Лаборатория эндокринологической генетики	26
Лаборатория нейрогеномики поведения	28
Лаборатория физиологической генетики	30
Лаборатория функциональной нейрогеномики	32
Сектор нейрогенетики социального поведения	34
Лаборатория молекулярных основ генетики животных	36
• Сектор молекулярной эпидемиологии и эволюции человека	38
• Межинститутский сектор палеогенетики	40
МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА, КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И БИОИНФОРМАТИКА	
Отдел молекулярной генетики	
• Лаборатория регуляции экспрессии генов	44
• Лаборатория структуры генома	46
• Сектор молекулярно-генетических механизмов белок-нуклеиновых взаимодействий	48
• Сектор геномной и постгеномной фармакологии	50
Лаборатория молекулярной и клеточной биологии	52
• Сектор мутагенеза и репарации	54
Лаборатория эволюционной биологии клетки	56
• Сектор эволюционной геномики хирономид	58

Лаборатория генетики клеточного цикла	60
Лаборатория эпигенетики развития	62
Лаборатория молекулярной биологии клетки	64
Лаборатория морфологии и функции клеточных структур	66
Лаборатория молекулярных биотехнологий	68
• Межинститутский молодежный сектор промышленной микробиологии	70
Лаборатория популяционной этногенетики	72
Отдел системной биологии	
• Лаборатория эволюционной биоинформатики и теоретической генетики	74
• Лаборатория молекулярно-генетических систем	76
• Сектор компьютерной протеомики	78
• Сектор высокопроизводительных вычислений в биоинформатике	80
ГЕНЕТИКА РАСТЕНИЙ	
Лаборатория хромосомной инженерии злаков	84
• Сектор генетики качества зерна	86
Лаборатория молекулярной генетики и цитогенетики растений	88
• Сектор цитогенетики злаков	90
Сектор генетики пшениц	92
Сектор экспериментального моделирования эволюционных процессов	94
Сектор симбиогенетики бобовых растений	96
Лаборатория генной инженерии	98
Лаборатория биоинженерии растений	100
Лаборатория генофондов и генетики систем размножения растений	102
Отдел генофондов экспериментальных растений	
• Лаборатория прикладной агробиотехнологии растений	104
ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ	106