

СЕКЦИЯ «БИОЛОГИЯ»**ПОДСЕКЦИЯ «ГЕНЕТИКА»**

**Ген *TAENIATA* – новый ген, участвующий в процессе поляризации листа
*Arabidopsis thaliana***

Ву Хуен Чанг¹, Ежова Татьяна Анатольевна²

¹аспирант, ²д.б.н

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: penguin_vht@mail.ru

Латеральные органы растений представляют собой полярные структуры с адаксиальной (верхней) и абаксиальной (нижней) поверхностями. Эти две стороны отличаются друг от друга морфологией клеток эпидермиса и мезофилла. На верхней стороне клетки дифференцируются таким образом, чтобы способность захвата энергии света была оптимальной. Клетки нижней стороны развивают особенности, необходимые для эффективного газового обмена. Поэтому поляризация является критическим процессом для развития структуры листа, оптимизированной для фотосинтеза. У *A.thaliana* идентифицировано несколько семейств генов, участвующих в формировании и дифференцировке клеток адаксиальной и абаксиальной поверхности. Гены класса III HD-ZIP, в особенности *PHABULOSA (PHB)*, *PHAVOLUTA (PHV)* и *REVOLUTA (REV)*, участвуют в контроле полярности листа. Доминантные мутации *phb* и *phv* вызывают суперэкспрессию генов и приводят к превращению абаксиальных частей в адаксиальные и образованию радиально симметричных листьев [1, 2]. Напротив, доминантная мутация *rev-10d* приводит к нарушению в сосудистой системе в эмбрионе, в результате образуется флоема, окружающая ксилему [2, 3]. Мутации с потерей функции этих генов не показывают никаких заметных эффектов на полярность латеральных органов. Так как гены *PHB*, *PHV* и *REV* показывают сходный характер экспрессии, считается, что функция этих генов частично перекрывается в развитии меристемы и поддержании нормальной дифференцировки клеток листа в латеральных органах. В коллекции кафедры генетики МГУ имеется мутант *taeniata (tae)*, выделенный с помощью мутагенеза из расы Blanes [4]. Мутант *tae* характеризуется плеiotропными изменениями морфологии, особенно проявлением на листьях новых листьев или иногда даже целых розеток листьев. Часто у этого мутанта наблюдалось нарушение полярности листа, при этом наблюдали оба два варианта изменений: когда верхний край листа преобладал над нижним (как бы наплывал на нижний) и наоборот. Это может объясняться тем, что клетки края листа у мутанта приобретали меристематические свойства, и вместо дифференцировки, приступали к активным делениям, о чем свидетельствовала активная экспрессия гена *CYCB1::GUS*. В зависимости от положения этих клеток, верхняя или нижняя части «наплывали» друг на друга, соответственно. Также наблюдали нарушение полярности новых формирующихся лопастей на листьях. Проведен анализ экспрессии генов, контролирующей полярность с использованием метода ПЦР в реальном времени. Проанализированы зрелые лист розетки растений мутанта и дикого типа (раса Blanes). Наблюдалось, что уровень экспрессии генов *PHB*, *PHV* и *REV* почти не изменен, хотя наблюдается нарушение полярности у мутанта *tae*, что свидетельствует о том, что ген *TAE* – новый ген, который контролирует поляризацию листа вне зависимости от ранее исследованных генов.

Исследования поддержаны грантами РФФИ (№ 07-04-01515-а), ФЦП НИИ 4202.2008.4, программой РАН «Динамика генофондов растений, животных и человека».

Литература

1. McConnell J.R., Emery J., Eshed Y., Bao N., Bowman J., Barton M.K.. Role of *PHABULOSA* and *PHAVOLUTA* in determining radial patterning in shoots // *Nature* 2001. V.411. P.709–713.
2. McConnell J.R., Barton M.K.. Leaf polarity and meristem formation in *Arabidopsis* // *Development* 1998. V.125 P.2935–2942.
3. Emery J.F., Floyd S.K., Alvarez J., Eshed Y., Hawker N.P., Izhaki A., Baum S.F., Bowman J.L.. Radial patterning of *Arabidopsis* shoots by class III HD-ZIP and *KANADI* genes // *Current Biology* 2003. V. 13. P.1768–1774.
4. Янушкевич С.И. Использование арабидопсис на практических занятиях по общей генетике. М: Изд. МГУ, 1985. 62.С.

Молекулярный дизайн термостабильной лихеназы, как белка-носителя целевых пептидов

Вячеслава А.О¹, Голденкова-Павлова И.В

¹ студентка

Институт Общей Генетики РАН, Группа биохимической генетики, Москва, Россия

E-mail: alias.v.o@gmail.com

В нашей работе мы использовали термостабильную лихеназу LicBM3 *S. thermocellum* как трансляционный репортерный белок-носитель целевых пептидов. Основанием для использования термостабильной лихеназы в качестве репортерного белка-носителя послужили ранее полученные результаты по созданию и изучению экспрессии бифункциональных белков на основе лихеназы LicBM3. Было показано, что в составе бифункциональных гибридных белков как лихеназа, так и целевые белки сохраняют свои основные свойства.

Цель нашей работы состояла в молекулярном дизайне последовательности гена термостабильной лихеназы для интеграции последовательности целевого пептида. Ранее проведенный компьютерный анализ трехмерной структуры термостабильной лихеназы позволил выбрать в молекуле термостабильной лихеназы области, которые могут использоваться для интеграции последовательностей пептидов. Были сконструированы четыре модифицированных и «циклически перестановленных» варианта термостабильной лихеназы. Сравнительный биохимический анализ основных свойств этих вариантов показал, что модификации не приводят к значительному изменению термостабильности и активности лихеназы. Далее были сконструированы гибридные белки, в которых целевые пептиды были встроены как внутренний модуль термостабильной лихеназы. Показано, что такие гибридные белки характеризуются сохранением основных свойств термостабильной лихеназы. Таким образом, было продемонстрировано, что как модифицированные, так и «циклически перестановленные» варианты лихеназы могут быть использованы как белки носители целевых пептидов. Далее был сконструирован гибридный ген, в котором в последовательность лихеназы была встроена последовательность, кодирующая γ -интерферон, как внутренний модуль. Изучение экспрессии гибридного гена в клетках прокариот показало, что гибридный белок, несущий γ -интерферон, накапливается в большей степени в растворимой форме по сравнению с нативным γ -интерфероном. Следует отметить, что при экспрессии гена γ -интерферон в клетках прокариот белковый продукт, в основном, накапливается в нерастворимой форме в тельцах включения.

Таким образом, полученные результаты продемонстрировали, что лихеназа может быть использована как белок-носитель целевых пептидов медицинского назначения для увеличения выхода целевых продуктов, которые в нативном виде характеризуются низким уровнем растворимости в цитоплазме прокариотических клеток. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 06-04-81009.

**Анализ мутаций гена LRRK2 у пациентов с болезнью Паркинсона из
Башкортостана**

***Гилязова И.Р., Simons E, Хидиятова И.М., Магжанов Р.В., Хуснутдинова Э.К,
Breedveld G., Oostra B, Bonifati V.***

В результате ряда исследований последних лет, проведенных во многих странах мира, у больных с аутосомно-доминантной формой болезни Паркинсона (PARK8) были идентифицированы мутации в гене LRRK2 (leucine-rich repeat kinase 2), локализованном в хромосомном регионе 12q11.2-q13.1 (OMIM 607060). В гене LRRK2 описано около 7 мутаций, которые считаются наиболее частой причиной развития БП позднего возраста. Мутации в гене LRRK2 были найдены у 5% лиц первой степени родства с больными БП и у 0.4-1.6% больных со спорадическими случаями заболевания. Известные мутации распространены в различных популяциях с разной частотой.

Мы провели скрининг мутаций G2019S, I2020T и G2385R у 341 пациента со спорадической БП (русских -129, татар – 156, башкир – 56) и 360 контрольных индивидов (русских – 103, татар- 131, башкир -126). Мутация G2019S в гетерозиготном состоянии была выявлена у одной больной башкирской этнической принадлежности, имеющей акинетико-ригидно-дрожательную форму БП с манифестацией заболевания в 63 года. Частота данной мутации составила для башкир 1,79% (1/56). Полученные значения соответствуют таковым в популяциях Европы. В контрольной выборке данная мутация не обнаружена.

Нуклеотидная замена G2385R обнаружена у двух больных татарской этнической принадлежности (1,28% среди татар, 0,6% - среди общей выборки больных). Одна из этих больных имела ригидно-дрожательную форму заболевания с манифестацией в 62 года, другой больной – акинетико-ригидно-дрожательную форму БП с манифестацией в 36 лет. В исследуемой группе контроля данный полиморфный вариант не выявлен. Полиморфизм G2385R ранее был описан, он выявлен как среди больных, так и среди контроля в Тайвани и Сингапуре. При этом, авторами было показано достоверное преобладание данной нуклеотидной замены среди больных, по сравнению с контролем: среди китайцев Сингапура частота ее составляла 7,3% среди больных и 3,6% среди контроля. Кроме того, авторы не обнаружили замены G2385R среди европейцев. Мутация I2020T не обнаружена ни в одной из исследованных этнических групп больных и контроля.

Анализ функции гена *prqA*, контролирующего устойчивость к метилвиологену цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803¹

Голенкина Софья Александровна²

студент

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: s_golenkina@mail.ru

Эффективным механизмом защиты клеток от токсичных соединений служит их удаление из цитоплазмы с помощью белков-транспортеров. В нашей лаборатории показано, что повышение устойчивости цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803 к индуктору окислительного стресса метилвиологену (MV; гербицид паракват) может быть связано с дерепрессией гена *prqA*, кодирующего предполагаемый Na⁺-антипортер множественной лекарственной устойчивости семейства МАТЕ, широко представленного у растений. Установлено также, что ген *prqA* входит в один оперон с регуляторным геном *prqR*, и оперон *prqRA* вовлечен в контроль адаптации цианобактерий к солевому стрессу; при этом с функцией *prqA* связана адаптивная деградация пигментов фотосинтеза и выживание клеток в экстремальных условиях.

Для доказательства антипортерной активности белка PrqA нами исследована способность мутантов *Synechocystis* PqA и PqR с инактивированным и дерепрессированным геном *prqA*, соответственно, удалять ¹⁴C-меченый MV из клеток. Свежие культуры цианобактерий, инкубированные в присутствии ¹⁴C-MV в буферном растворе, помещали в среду для автотрофного роста и с 12-мин интервалом отбирали аликвоты, которые фильтровали через бактериальные фильтры. Измерение радиоактивности на фильтрах показало, что для мутанта PqA характерно низкоэффективное выведение меченого MV, около 20% от исходного уровня за 60 мин инкубации, тогда как у мутанта PqR внутриклеточное содержание MV снижалось на 60-80% уже за 36 мин инкубации. Ингибитор трансмембранного градиента протонов не влиял на эффективность удаления ¹⁴C-MV у мутанта PqR, однако инкубация клеток в изотоническом буфере, не содержащем солей натрия, заметно снижала скорость выведения радиоактивной метки. В совокупности эти данные доказывают, что белок PrqA играет роль молекулярного насоса, выкачивающего MV из цитоплазмы; вместе с тем они служат косвенным свидетельством наличия у белка PrqA Na⁺-зависимой антипортерной активности.

Актуальной задачей является введение гена *prqA* в модельные растения табака с анализом их толерантности к абиотическим стрессам; в качестве гена-репортера экспрессии *prqA* в гетерологичной системе будет использован ген *licBM2*, кодирующий термостабильную лихеназу *Clostridium thermocellum*. Нами сконструированы транскрипционно-трансляционные слияния *prqA-licBM2* и *licBM2-prqA*, клонированные в рекомбинантных плаزمиде рЕТ-PAL и рЕТ-LBP на основе вектора экспрессии в клетках *E. coli*. Показано, что оба слияния обуславливают проявление лихеназной активности. В настоящее время проводится молекулярный анализ двухкомпонентных гибридов, состоящих из белков PrqA и LicBM2, синтезируемых в клетках *E. coli*.

¹Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект №05-04-49371), ЦНТП РИ-112/001/211 («Ведущие научные школы»), и программы фундаментальных исследований РАН «Динамика генофондов растений, животных и человека».

²Автор выражает глубокую признательность соавторам работы: главному научному сотруднику Голденковой-Павловой Ирине Васильевне (ИОГен им. Н.И. Вавилова РАН) и доценту Бабыкину Михаилу Михайловичу.

Создание экспериментальных моделей трансгенных растений табака, устойчивых к неблагоприятным условиям среды

Гордукова М.А., Шимшилашвили Х.Р., Ралдугина Г.Н., Голденкова-Павлова И.В.

студент

Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: masha@maximaf.ru

В настоящее время существует проблема получения устойчивых форм растений, приспособленных к различным условиям среды. Известно, что при низких температурах снижается текучесть мембран, и, как следствие, происходит разобщение связей мембранных белков, что в свою очередь приводит к нарушению транспорта веществ через плазматическую мембрану. Итогом таких изменений является нарушение клеточного метаболизма, что может привести к гибели всего организма. Увеличение уровня ненасыщенных жирных кислот мембранных липидов помогает клетке сохранить нормальный уровень текучести мембран при холодовом стрессе. Количество и степень ненасыщенных жирных кислот в липидах мембран контролируются ферментами десатуразами. Мы предположили, что перенос и экспрессия в растениях гетерологичных генов десатураз в растительных клетках будет изменять количество ненасыщенных жирных кислот в липидах мембран, что приведет к увеличению устойчивости растений к ряду стрессовых воздействий: изменение температур и осмотический стресс.

Цель работы заключалась в создании экспериментальных моделей трансгенных растений, устойчивых к стрессовым факторам, за счет экспрессии генов десатураз с различной субстратной специфичностью. В качестве модельного объекта были выбраны растения табака (*Nicotiana tabacum*), для которого разработаны системы регенерации и трансформации *in vitro*. В качестве целевого гена был взят ген *desC* из цианобактерии *Synechocystis* sp PCC 6803, кодирующий $\Delta 9$ -десатуразу. Поскольку десатуразы обладают ферментативной активностью, которую можно определить, используя трудоемкие методы, были сконструированы гибридные гены, в которых целевые гены десатураз трансляционно слиты с последовательностью репортерного гена термостабильной лихеназы. Использование репортерной системы термостабильной лихеназы в дальнейшем позволит провести быстрый отбор полученных трансформантов-растений, экспрессирующих целевой ген, по ферментативной активности лихеназы, а также оценить уровень экспрессии введенных генов. Помимо этого, ранее в клетках модельных прокариот было показано, что в составе гибридных белков как лихеназа, так и десатураза сохраняют свои основные свойства: лихеназа сохраняет активность и термостабильность, а десатураза – способность катализировать введение двойных связей в остатки жирных кислот. Были сконструированы растительные экспрессионные вектора, несущие нативный и гибридный ген десатуразы, под контролем конститутивного промотора. Этими векторами был трансформирован штамм агробактерий (*Agrobacterium tumefaciens*). Агробактериальные трансформанты были использованы для трансформации растений табака методом листовых дисков. Первичные трансформанты табака были отобраны на среде с селективным агентом – канамицином, поскольку оба вектора содержали кассету устойчивости к этому антибиотику. Методом ПЦР был проведен отбор первичных трансформантов табака, которые несут в геномной ДНК последовательности перенесенных генов. Отобранные таким образом первичные трансформанты табака использованы для размножения в культуре *in vitro* и *in vivo* для проведения дальнейших молекулярно-генетических и физиолого-биохимических исследований.

Редукция генома профага вирулентности СТХф, индуцированная внедрением в хромосому *Vibrio cholerae* транспозона Tn5-Mob

Горяев Артем Анатольевич

аспирант

Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов

E-mail: art-goryaev@yandex.ru

В современный период вполне очевидно, что одной из основных причин генетической изменчивости многих бактерий является делеция их геномов. Потеря генетического материала может внести существенные изменения в важнейшие вирулентные и антигенные свойства патогенных бактерий. Одна из возможных причин потери генетического материала – различные рекомбинационные события, связанные с мобильными генетическими элементами (МГЭ). Поскольку в состав генома многих патогенов входят разные МГЭ (профаги, IS- и Tn-элементы, «острова патогенности», интегроны), то выяснение различных механизмов взаимодействий этих МГЭ и функциональных последствий этих событий внесет определенный вклад в решение проблем генетической внутривидовой изменчивости прокариот.

Для выяснения взаимодействия двух МГЭ в качестве модельной системы был взят штамм возбудителя холеры *V. cholerae* MAK757, несущий в хромосоме две копии профага вирулентности СТХф, и транспозон Tn5-Mob (KmR). СТХф – нитчатый профаг размером 6,9 kb внедрен в специфический сайт одной из хромосом *V. cholerae* и состоит из коровой области и RS2. Коровая область содержит гены *zot*, *ace*, *cep*, *orfU*, *psh*, определяющие биосинтез белков, необходимых для формирования фаговых частиц, и оперон *ctxAB*, ответственный за синтез холерного токсина (ХТ) – ключевого фактора вирулентности *V. cholerae*. RS-2 содержит две межгенные области (*ig-1* и *ig-2*) и гены *rstA*, *rstB* и *rstR*, контролирующие репликацию, интеграцию и регуляцию указанного фага. Выбор транспозона Tn5-Mob (KmR) был обусловлен его широким распространением среди разных бактерий, а также его способностью внедряться в хромосому *V. cholerae* вблизи СТХф.

В результате было показано, что внедрение Tn5-Mob в хромосому модельного штамма *V. cholerae* MAK757 вызывает образование инсерционных мутантов трех типов. У мутантов первого типа происходит утрата одной копий СТХф и одновременная делеция генов *zot*, *ace*, *cep*, *orfU* второй копий. Уровень биосинтеза ХТ у таких клонов, потерявших более 60% генома коровой части профага, но сохранивших лишь оперон *ctxAB*, возрастает более чем в 2000 раз по сравнению с исходным штаммом. Вторая группа инсерционных мутантов характеризовалась тем, что встраивание транспозона в хромосому не сопровождалась делецией профага, однако уровень биосинтеза ХТ возрос в более 100 раз. И в последнюю группу входили нетоксигенные мутанты, образовавшиеся за счет утраты обеих копий профага СТХф. Механизм формирования высокотоксигенных и нетоксигенных клонов, основанный на перестройках ДНК, связанных с проникновением в геном патогенных бактерий новых для них МГЭ, представляет большой интерес, поскольку такие события могут играть важную роль в эволюции генома возбудителя холеры. Очевиден также и прикладной аспект этого события, поскольку созданный штамм с суперпродукции ХТ может быть использован для получения этого иммуногенного белка, который используется в приготовлений холерных профилактических и диагностических препаратах.

Тезисы доклады основаны на материалах исследований, проведенных в рамках гранта РФФИ (грант № 06-04-48310а) и гранта РФФИ-офи (грант № 06-04-08122).

Автор выражает признательность профессору, д.б.н. Смирновой Н.И. за помощь в подготовке тезисов.

Исследование транспозиционной активности ретротранспозонов группы *gypsy* у *Drosophila melanogaster*

Дыйканов Данияр Таалайбекович

студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: shockland@inbox.ru

Мобильные генетические элементы (МГЭ) составляют значительную часть генома эукариот. Обычно геномы эукариот содержат ретротранспозоны с длинными концевыми повторами (ДКП-ретротранспозоны). Такие ретротранспозоны сходны с провирусами ретровирусов. В последние годы активно велась работа по исследованию ретротранспозонов *D.melanogaster*, относящихся к группе *gypsy*. Элемент МДГ4 (*gypsy*) дрозофилы является типичным ДКП-ретротранспозоном, содержащим три ОРС (открытые рамки считывания). Наличие функционально активной ОРС3, а также способность МДГ4 к горизонтальному переносу, позволяют отнести *gypsy* к ретровирусам. Перемещения мобильных элементов являются важным фактором индивидуальной изменчивости. В клетке существуют механизмы, подавляющие транспозиции. У *D.melanogaster* транспозиции МДГ4 контролирует ген *flamenco* (Kim *et al.*, 1994b). Получены и охарактеризованы линии *D.melanogaster*, мутантные по гену *flamenco*, которые характеризуются высокой частотой транспозиций МДГ4. МГЭ Idefix, ZAM, Tirant, Nomad, 297, 17.6 — ретротранспозоны, имеющие сходное строение с МДГ4 и относящиеся к группе *gypsy*. Это позволяет предположить наличие сходного или общего генетического контроля транспозиции этих элементов. Известно, что Idefix и ZAM подчиняются генетическому контролю со стороны локуса COM (центр организации мобилизации), который локализован в той же области, что и *flamenco* (Desset *et al.*, 2003). Нами была поставлена серия экспериментов по выявлению различий в распределении элементов группы *gypsy* в геноме линий, различающихся по фенотипу *flamenco*. С помощью инвертированной полимеразной цепной реакции (ПЦР) производилась амплификация окружения ретротранспозонов у линий *D.melanogaster* таких как 413 (дикий тип, *flamenco*⁺), 7K (*flamenco*⁻, содержит неактивные копии МДГ4) и 145 (*flamenco*⁻, содержит активные копии МДГ4), затем анализ длин амплифицированных фрагментов. Полиморфизм длин фрагментов, полученных при амплификации ДНК из разных линий, свидетельствовал о различном окружении исследуемого МГЭ, различном распределении его копий в геноме, и, следовательно, об его транспозиции. Для подтверждения данных проводили Southern-Blot гибридизацию. В ходе эксперимента были выявлены различия в распределении у разных линий двух ретротранспозонов Idefix и ZAM, что позволяет сделать предположение об участии в генетическом контроле этих элементов гена *flamenco*.

Литература

1. Kim, A., Terzian, C., Santamaria, P., Péliссon, A., Prud'homme, N. *et al.* Retroviruses in vertebrates: the *gypsy* retrotransposon is apparently an infectious retrovirus of *Drosophila melanogaster*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1994a; 91: 1285-1289.
2. Desset, S., Meignin, C., Dastugue, B., Vaury, C. COM, a heterochromatic locus governing the control of independent endogenous retroviruses from *Drosophila melanogaster*. Genetics. 2003 Jun; 164(2): 501-509.

Сравнительный анализ частот мутантных генов в популяциях центральной и юго-восточной части Беларуси

Зяцьков Сергей Александрович¹

аспирант

Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины, Гомель, Беларусь

E-mail: rextmundi@inbox.ru

Установлено, что частоты встречаемости аллелей, определяющие генетическую структуру популяций – это устойчивый показатель, позволяющий решать множество популяционно-генетических и геногеографических задач. В больших популяциях при отсутствии отбора и селективной миграции этот показатель может сохраняться без изменения в десятках и сотнях поколений.

В ходе проведенной работы было проанализировано более 1000 особей *Felis catus* (домашней кошки) в пяти городах центральной и юго-восточной части Беларуси (Гомель, Жлобин, Копыль, Минск, Могилев). Для сравнительного анализа использовались три индикаторных гена: два аутосомных – Long hair (рецессивный аллель **I**) и Tabby (рецессивный аллель **t^b**) и один сцепленный с полом Orange (доминантный аллель **O**). Фенотипическое проявление аллелей и их взаимодействие детально описаны в специальных руководствах [1]. Частоты рецессивных (*q*) и доминантных аллелей (*p*) определялись стандартными методиками [1, 2]. Данные, полученные в ходе исследований были сведены в таблицу 1.

Таблица 1 – Частоты встречаемости аллелей **I**, **t^b** и **O** в исследуемых городах

Популяция	Частота аллеля I	Частота аллеля t^b	Частота аллеля O
Гомель	0,508±0,017	0,106±0,030	0,197±0,014
Жлобин	0,454±0,076	-	0,081±0,041
Копыль	0,376±0,044	-	0,131±0,026
Минск	0,533±0,042	-	0,205±0,036
Могилев	0,516±0,055	-	0,280±0,059

Исходя из полученных данных, можно сказать, что частота аллеля **I** варьировала от 0,376 (Копыль) до 0,533 (Минск) и в среднем составила 0,477. Аллель **t^b** встретился лишь в одной популяции (Гомель), где частота этого аллеля равнялась 0,106. Этот аллель не характерен для восточной Европы и встречается с максимальной частотой в западной Европе (к примеру, в Лондоне частота его 0,814, в Париже – 0,780 [4, 5]). Частота сцепленного с полом доминантного аллеля **O** в исследуемых популяциях варьировала от 0,131 (Копыль) до 0,280 (Могилев) и в среднем равнялась 0,179. Полученные данные свидетельствуют о единстве генетической структуры на исследуемой территории и наличии своего консолидированного генофонда в популяциях домашних кошек *Felis catus*.

Автор выражает признательность чл.-корр. НАНБ, профессору, д.б.н. Г. Г. Гончаренко за помощь в исследованиях.

Литература

1. Гончаренко, Г.Г., Зяцьков, С.А. (2007) Генетика. Анализ наследственных закономерностей на генах меха кошек *Felis catus*. Гомель: ГГУ им. Ф. Скорины.
2. Гончаренко, Г.Г. Лопатин, О.Е., Манченко, Г.П. (1985) Мутантные гены окраски в популяциях домашних кошек Средней Азии и Европейской части СССР // Генетика, Т. XXI, № 7, С.1151-1158.
3. Dreux, P.H. (1967) Gene frequencies in the cat populations of Paris//Journal of Heredity, 58, 92.
4. Searle A.G. (1949) Gene frequencies in London's cats//Journal of Heredity, 49, 214–220.

**Влияние ретротранспозона *opus* на транскрипционную активность гена *Rad51C*
*Drosophila melanogaster***

Ильина Юлия Александровна

стажер-исследователь

Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова РАН, Гатчина,
Россия

E-mail: poltoradnya@inbox.ru

В последнее время большое внимание уделяют изучению влияния мобильных генетических элементов (МГЭ) на регуляцию генной экспрессии. Известно, что МГЭ, внедряясь в гены, могут не только их инактивировать, но и способны существенно менять характер экспрессии генов. Действие МГЭ в роли инсуляторов или сайленсеров генов, ответственных за поддержание стабильности генома, в условиях стрессовых воздействий на ДНК может приводить к клеточной и организменной гибели.

В лаборатории генетики эукариот ОМРБ ПИЯФ РАН по признаку чувствительности личинок *Drosophila melanogaster* к ионизирующей радиации была выделена мутация *rad201G1*. Дальнейшие исследования мутации *rad201G1* показали, что она вызывает эпигенетическую регуляцию генов, вовлеченных в репарацию двунитевых разрывов (ДР) ДНК, вызванных перемещением неавтономных Р-элементов. Мутация *rad201G1* локализована в районе 45В1, где расположены два перекрывающиеся 3'-концами гена *rad201* и *Rad51C*. Известно, что ген *rad201* содержит мотивы “цинковых пальцев” и принимает участие в репарационных процессах, но точная молекулярная функция его пока не установлена. Ген *Rad51C* является паралогом центрального гена рекомбинационной репарации *Rad51*. Ранее было показано, что мутация *rad201G1* характеризуется инсерцией ретротранспозона *opus* в регуляторную область гена *Rad51C*. Было показана корреляция между инсерцией ретротранспозона *opus* и появлением признака γ -чувствительность у мутанта *rad201G1 Drosophila melanogaster*. Настоящая работа посвящена исследованию влияния ретротранспозона *opus* на нативную транскрипционную активность гена *Rad51C*, и после воздействия γ -излучения. Проводилось выделение тотальной РНК с использованием набора RNeasy Mini Kit (Qiagen) из яичников и личинок третьего возраста линий дрозофилы, характеризующихся различием в регуляторной области гена *Rad51C*. Для реакции обратной транскрипции использовали набор OneStep RT-PCR Kit (Qiagen). Для последующей амплификации исследуемого гена *Rad51C* использовали праймер на третий экзон cagtgctcaccatcagggcc и праймер ggaatcgaagagtggacaaaact гомологичный последовательности конца первого и начала второго экзонов. В качестве контроля использовали ген RpL32, кодирующий рибосомальный белок L32. Установлено, что инсерция ретротранспозона *opus* в регуляторную область гена *Rad51C* снижает уровень нативной транскрипции гена *Rad51C*. В условиях проведенных экспериментов показано, что в течение первых двух суток после воздействия γ -излучения транскрип гена *Rad51C* у мутанта не регистрируется, что может быть связано с инсуляторной функцией инсерции ретротранспозона *opus*. Таким образом, гиперчувствительность мух к ионизирующей радиации может быть обусловлена подавлением транскрипции гена *Rad51C* инсерцией ретротранспозона *opus*.

Работа поддержана грантом Президиума РАН “Динамика генофондов растений, животных и человека” и грантом РФФИ 07-04-01168.

Создание CAPS-маркеров для картирования природных рас и линий *Arabidopsis thaliana* и локализация на молекулярно-генетической карте гена, контролирующего морфогенез листа

Карпенко Оксана Юрьевна¹, Ву Хуен Чанг², Ежова Татьяна Анатольевна³

¹студент, ²аспирант, ³д.б.н.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: k.oksanka@gmail.com

Исследование генетического полиморфизма необходимо для картирования мутаций, полученных на основе различных рас *Arabidopsis thaliana*. В настоящее время молекулярно-генетические маркеры созданы только для выявления полиморфизма между полностью секвенированным геномом расы Columbia (К-8) и частично секвенированным геномом лабораторной линии Landsberg erecta (Ler). В данной работе мы анализировали ДНК-полиморфизм между десятью различными расами и линиями *Arabidopsis thaliana* (Columbia (К-8), Landsberg erecta (Ler), Dijon (К-1), Blanes (К-6), Enkhaem (К-2), Koeln (К-4), К-310, mm1R, mm1L, mm5), используя CAPS-маркеры, которые были ранее разработаны для выявления ДНК-полиморфизма между расой Columbia и линией Ler. Кроме того, на основе секвенирования и изучения SNP-полиморфизма в ряде генов из рас Blanes создавали новые CAPS- и dCAPS-маркеры по всем пяти хромосомам. В результате исследований были созданы 7 новых CAPS- и dCAPS-маркеров и проанализирован полиморфизм по 16 уже известным CAPS-маркерам между изучаемыми расами. Полученные нами данные могут использоваться для планирования экспериментов по молекулярному картированию мутаций на основе рас, для которых нет информации о молекулярных маркерах. С помощью созданных CAPS-маркеров удалось провести тонкое молекулярное картирование гена *TAENIATA*, участвующего в морфогенезе листа. Было исследовано 32 растения из F2 от скрещивания с полиморфными расами и маркерными линиями. Среди исследованных растений обнаружено 10 рекомбинантных хромосом по *T20D163*, расстояние до гена *TAE* 17,9 сМ, и 2 рекомбинантные хромосомы по маркеру к гену *COP1* (CAPS-*COP1*), расстояние до гена *TAE* 3,6 сМ. Установлено, что рекомбинанты по CAPS-*COP1* являются одновременно и рекомбинантами по маркеру *T20D163*, следовательно, ген *TAE* расположен справа от гена *COP1*. Среди 31 проанализированного растения, рекомбинантных хромосом по маркеру к гену *PHB* (CAPS-*PHB*) не обнаружено, что может свидетельствовать о тесном сцеплении между генами *TAE* и *PHB*. Также не обнаружено рекомбинантов по маркеру dCAPS-*PID*. Предполагая, что найдено по одной рекомбинантной хромосоме, можно сказать, что расстояние между генами *TAE* и *PID* меньше, чем 1,58 сМ, а между *TAE* и *PHB* меньше 1,63 сМ. Также найдены 2 рекомбинантные хромосомы по маркеру CAPS-*BOP2*, которые не являются рекомбинантными по маркерам *T20D163* и CAPS-*COP1*. Значит, ген *TAE* расположен слева от *BOP2* на расстоянии 3,2 сМ. Среди исследованных растений найдена 1 рекомбинантная хромосома между *TAE* и CAPS-*AUX1*. Причем рекомбинант по CAPS-*AUX1* является рекомбинантом по CAPS-*BOP2*, следовательно, ген *TAE* расположен слева от *AUX1* на расстоянии 1,6 сМ (рисунок).

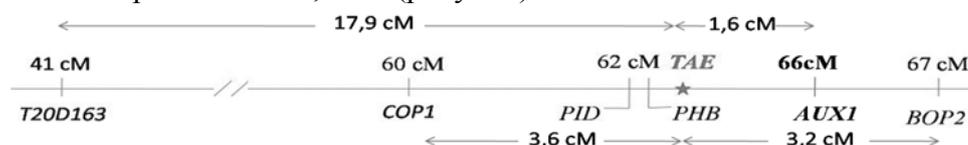


Рисунок: Положение гена *TAE* на генетической карте хромосомы II *A. thaliana*

Исследования поддержаны грантами РФФИ (№ 07-04-01515-а), ФЦП НШ 4202.2008.4, программой РАН «Динамика генофондов растений, животных и человека».

**Оперон *prqRA*, кодирующий TetR-подобный регулятор транскрипции
и антипортер семейства МАТЕ, вовлечен в адаптивный ответ на солевой стресс
у цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803¹**

Кирик Инесса Анатольевна²

младший научный сотрудник

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: zz79@mail.ru

К стрессовым воздействиям, которым подвергаются клетки фотосинтезирующих организмов, относятся резкие перепады температуры и освещенности, нарушения водно-солевого режима, изменения pH и концентрации различных ионов. Все аэробные организмы обладают эффективными механизмами адаптации к стрессам, включая координированную индукцию генов с защитными функциями. Ген *prqA*, кодирующий предполагаемый Na⁺-зависимый антипортер лекарственных соединений семейства МАТЕ, контролирует устойчивость к индуктору окислительного стресса метилвиологену у цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803. Этот ген входит в состав оперона *prqRA*, в котором ген *prqR* кодирует TetR-подобный регулятор транскрипции, представляющий репрессор оперона. Мутации гена *prqR*, приводящие к дерепрессии оперона *prqRA*, обуславливают повышение устойчивости клеток *Synechocystis* к метилвиологену.

В работах с использованием ДНК-microarray анализа выявлено, что ген *prqR* индуцируется в ответ на повышение концентрации хлорида натрия в среде, однако индукции гена *prqA* при этом показано не было. Для выяснения роли оперона *prqRA* в адаптации клеток к солевому стрессу штамм дикого типа и мутанты PqA и PqR с геном *prqA*, инактивированным или дерепрессированным, соответственно, были изучены в различных условиях солевого стресса. Показано, что обработка хлоридом натрия в умеренной концентрации (0,684M) приводит к существенному транзитному повышению (с максимумом индукции через 2 ч при 4-ч обработке) транскрипции оперона в клетках штамма дикого типа. В сравнении со штаммом дикого типа мутант PqR с дерепрессированным геном *prqA* обладает повышенной устойчивостью к летальной концентрации соли (2M NaCl), тогда как мутант PqA с инактивированным геном *prqA* характеризуется пониженной способностью развивать устойчивость к летальной концентрации соли после предобработки клеток NaCl в умеренной концентрации. Следовательно, оперон *prqRA* вовлечен в контроль индуцируемой устойчивости цианобактерий к солевому стрессу. Установлено также, что предобработка клеток NaCl в сублетальной концентрации (0,5M) индуцирует повышение синтеза и/или стабильности хлорофилла а и фикобилинов при солевом стрессе (2M NaCl) в клетках исследованных штаммов. Вместе с тем при летальной концентрации соли хлорофилл а и фикобилины, претерпевающие значительную деградацию в клетках штамма дикого типа и мутанта PqR, сохраняются в 2,5 раза большем количестве в клетках мутанта PqA с инактивированным геном *prqA*.

Полученные нами данные позволяют заключить, что оперон *prqRA* вовлечен в адаптацию цианобактерий к солевому стрессу, причем функция гена *prqA*, кодирующего белок-антипортер токсичных соединений, связана с адаптивной декомпозицией пигментов фотосинтеза и обеспечением выживания клеток в экстремальных условиях.

¹Тезисы доклада основаны на материалах исследований, проведенных в рамках грантов РФФИ (проект №05-04-49371) и ЦНТП РИ-112/001/211 («Ведущие научные школы»)

²Автор выражает благодарность за помощь в подготовке и обсуждении тезисов и доклада соавтору работы доценту Бабыкину Михаилу Михайловичу

**Функциональный анализ генов, контролирующих транспорт цинка у
цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803**

Коробан Надежда Викторовна, Кряжов Сергей Васильевич

аспирант, сотрудник

МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

nosy_n85@mail.ru

Двухвалентные металлы являются необходимыми кофакторами для различных клеточных процессов. Цинк является необходимым элементом для всех организмов и широко распространен в биосфере. У фотосинтезирующих организмов цинк необходим для транспорта электронов и фотофосфорилирования, и для функционирования таких ключевых ферментов, как карбонилангидраза и супероксиддисмутаза.

У одноклеточной цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803 (далее *Synechocystis* 6803), геном которой полностью секвенирован, детально охарактеризован кластер генов, вовлеченный в гомеостаз металлов. Один из генов этого кластера, *ziaA*, кодирует цинк-зависимую АТФазу *ZiaA*, функция которой заключается в выведении цинка из клетки, в то время как транскрипционный репрессор *ZiaR*, принадлежащий к семейству белков *ArsR/SmtA*, регулирует экспрессию гена *ziaA*. Кроме того, в геноме *Synechocystis* 6803 идентифицирован оперон *znuABC*, кодирующий транспортную систему (ABC-транспортер), предположительно вовлеченную в поглощение цинка. Непосредственно перед опероном *znuABC* расположен транскрибируемый в противоположном направлении ген *sll1937 (znuR)*, кодирующий транскрипционный регулятор семейства *Fur*. Ранее в нашей лаборатории было установлено, что инактивация гена *znuR* у *Synechocystis* 6803 приводит к дерепрессии оперона *znuABC* и гена *sll1550*, кодирующего белок внешней мембраны порин. Однако этот мутант не отличался по чувствительности к цинку от дикого типа. В данной работе было показано, что у мутанта с делецией оперона *znuABC* отсутствует рост на среде с низким содержанием цинка. Был сконструирован двойной мутант с инактивацией генов *ziaA* и *znuR*. Этот мутант проявлял более высокую чувствительность к цинку по сравнению с одиночным мутантом по гену *ziaA*. Следовательно, дерепрессия оперона *znuABC* у мутанта по гену *ziaA* с нарушенной системой экспорта цинка ведет к увеличению внутриклеточной концентрации цинка, и, как следствие, к повышенной чувствительности к цинку. Эти данные однозначно свидетельствуют о том, что оперон *znuABC* ответственен за поглощение цинка у *Synechocystis* 6803. Мутант по гену *sll1550* не отличается по чувствительности к цинку от штамма дикого типа. Это указывает на то, что порин *Sll1550* не принимает участия в поглощении ионов металлов клетками *Synechocystis* 6803 и его функция пока не выявлена.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии, по крайней мере, двух систем поглощения цинка у *Synechocystis* 6803: высоко- и низкоаффинной. Высокоаффинная система *ZnuABC*, функционирует при голодании по цинку и ей принадлежит ключевая роль в обеспечении цинком *Synechocystis* 6803. Белок *ZnuR* является сенсором цинка и в его присутствии связывается с промотором оперона *znuABC* и репрессирует его экспрессию. Низкоаффинная система транспорта цинка, компоненты которой к настоящему времени остаются неизвестными, активна при достаточной концентрации цинка.

Работа поддержана грантом РФФИ 07-04-00117.

Молекулярно-генетическое исследование гена DIP1 у видов рода *Drosophila***Коростин Дмитрий Олегович**

студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

e-mail: klon2045@gmail.com

Мобильные генетические элементы (МГЭ) играют важную роль в жизни эукариотических организмов. Они составляют значительную часть генома, формируя основную часть молчащей ДНК, их активные транспозиции являются одним из важных факторов индивидуальной изменчивости. Чаще всего в геномах эукариот содержатся ретротранспозоны с длинными концевыми повторами (ДКП-ретротранспозоны). По структуре они очень похожи на ретровирусы. Так как активные транспозиции вредны для клетки и организма (перемещаясь, МГЭ оказывают влияние на уровень экспрессии окружающих генов) и даже летальны, у них выработались механизмы, подавляющие перемещения МГЭ.

Объектом нашего внимания является ретротранспозон МДГ4. Особенностью группы, к которой относится МДГ4, является наличие трех открытых рамок считывания и длинных концевых повторов, гомологичных таковым у ретровирусов. Перемещения МДГ4 осуществляются белком транспозазой, кодируемой второй рамкой считывания (pol). В ходе исследований путем инсерционного мутагенеза были получены две линии мух *D.melanogaster*: в одной МДГ4 активно перемещался (MS), а в другой (SS) транспозиции не обнаруживались. В дальнейшем было установлено, что геном-кандидатом на роль контроллера перемещений МДГ4 является ген DIP1, расположенный наиболее близко к инсерции. Очевидный путь определения функции DIP1 – его инактивация. Однако, DIP1 является геном домашнего хозяйства, поэтому подобная манипуляция с ним приведет к летальному эффекту. В качестве одного из альтернативных вариантов было выбрано сравнительное исследование структуры и функциональной активности DIP1 у десяти видов рода *Drosophila*, находящихся в разной степени филогенетического родства. На основании полученных данных удалось установить различия в экзон-интронном строении гена, которые могут влиять на экспрессию его альтернативных продуктов, и, как следствие, уровень транспозиций DIP1. Показано, что наиболее активно перемещения МГЭ происходят на эмбриональной стадии развития. Изучение экспрессии DIP1 на разных стадиях онтогенеза показало, что она неконстантна: выявлены дополнительные транскрипты, которые могут быть ответственны за подавление транспозиций.

Цитогенетический анализ пшеницы сорта Звезда и линий, полученных на его основе

Крупин Павел Юрьевич

студент

Российский государственный аграрный университет МСХА имени К.А. Тимирязева,
Москва, Россия

E-mail: pavel-krupin@yandex.ru

Звезда – районированный сорт озимой мягкой пшеницы, полученный методом отдаленной гибридизации с использованием ступенчатых скрещиваний при участии пырея среднего (*Elytrigia intermedia*), характеризующийся выдающимися показателями по ряду хозяйственно-ценных признаков, близкими к пырею темпами роста и развития, а также высоким полиморфизмом по разным признакам (Кондратьева, Кондратьев, 1993). Из сорта Звезда были отобраны линии Звезда низкостебельная и Звезда одностебельная. Целью работы было проведение цитогенетического анализа сорта Звезда и линий, полученных на её основе.

Для выявления полиморфизма линий Звезда одностебельная и Звезда низкостебельная нами использована методика С-окраски [2]. Геномная *in situ* гибридизация в соответствии с методикой Karlov et al. (1999) проведена с целью выявления интрогрессии *E. intermedia* (блок – ДНК мягкой пшеницы, проба – ДНК *E. intermedia*); положительный контроль – линия ППГ 3202. При анализе кариотипа линии Звезда одностебельная и Звезда низкостебельная установлены специфические С-бэнды: интерстициальный бэнд на 3ВL и теломерный бэнд на 6ВL среди полиморфных для Звезды бэндов [3]. Дополнительно у линии Звезда одностебельная выявлен небольшой теломерный С-бэнд на 2ВL, не обнаруженный у исходного сорта, что может свидетельствовать как о неполном охвате всех биотипов при скрининге исходного сорта, так и о том, что данный бэнд является маркерным для данной линии. Интрогрессий генетического материала *E. intermedia* в геноме сорта Звезда с помощью GISH не установлено, что согласуется с ранее опубликованными данными [1, С. 37-40], в то время как анализ метафазных пластинок ППГ 3202 выявил наличие 42 пшеничных и 14 пырейных хромосом. Результаты можно объяснить как отсутствием интрогрессии, так и тем, что её размеры меньше предельно допустимой разрешающей способности GISH (10 kbp). Таким образом, отчасти раскрыта наследственная основа полиморфизма сорта Звезда как совокупности биотипов и, следовательно, её экологической пластичности.

Автор выражает признательность доценту, д.б.н. Соловьёву А.А. и ассистенту, к.б.н. Дивашуку М.Г. за помощь в подготовке тезисов. Гибрид *T. aestivum* × *E. intermedia*, 2n=56; любезно предоставлен Отделом отдаленной гибридизации ГБС им. Н.В. Цицина РАН.

Литература

1. Кондратьева Н.Н., Кондратьев А.А. Озимая пшеницы Звезда. // Селекция и семеноводство, 1, 1993, 37-40.
2. Бадаева Е.Д., Бадаев Н.С., Созинова Л.Ф., Турбин Н.В. Метод дифференциального окрашивания для создания «хромосомного паспорта» хлебных злаков // Сельскохозяйственная биология, 1, 1989.
3. Karlov G.I., Khrustaleva L.I., Lim K.B., Van Tuyl J.M. Homoelogenous recombination in 2n-gametes producing interspecific hybrids of lillium (*Liliaceae*) studied by genomic *in situ* hybridization (GISH). // Genome, 42, 1999, 681-686.
4. Дивашук М.Г., Соловьёв А.А. Цитогенетическая характеристика сорта озимой пшеницы Звезда. – Вавиловские чтения – 2004. Секция селекции и генетики. – Саратов, 2004, с.14-17.

Сравнительный анализ экспрессии генов пероксидаз, локализованных в 5-ой хромосоме *Arabidopsis thaliana*

Куприянова Евгения Владимировна

Научный сотрудник

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: ekupriyanova@gmail.com

Пероксидазы растений принимают участие в защите растений от действия различных стрессовых факторов и патогенов, участвуют в процессах лигнификации и суберинизации клеточных стенок и катаболизма ауксина. В геноме *A.thaliana* обнаружено 73 гена, относящихся к семейству растительных пероксидаз III класса.

Анализ EST 5 генов пероксидаз (*Atprx 52*, *Atprx 53*, *Atprx 54*, *Atprx 55*, *Atprx 56*) показал низкий уровень экспрессии в разных органах, наиболее высокий из них отмечается у *Atprx 54* (13 EST). Такой уровень экспрессии является незначительным по сравнению с экспрессией многих пероксидазных генов (например, *AtPrx42* -1498 EST). Нельзя не учитывать, однако, что экспрессия многих пероксидазных генов наблюдается только при определенных стрессовых воздействиях. Поэтому для окончательного вывода об экспрессии выбранных генов необходимы экспериментальные исследования. Нами проведен сравнительный анализ экспрессии 5 генов пероксидаз в стебле и розеточных листьях растений расы Dijon-M (дикий тип) полуколичественным методом ОТ-ПЦР. Обнаружены различия в уровне экспрессии пероксидазных генов: наибольший характерен для гена *Atprx 53*, наименьший – для генов *Atprx 52* и *Atprx 56* (слабо детектируемый сигнал после 40 цикла ПЦР). Кроме того, проведено изучение влияния стрессовых воздействий на уровень экспрессии гена *Atprx53* в разных органах и на разных стадиях. Пробы кДНК были получены из розеточных листьев, стебля, цветков и стручков 6-ти недельных растений и из 3-х недельных розеточных листьев. Выявлена четкая зависимость уровня транскрипции этого гена от стадии онтогенеза и типа органа. Интересно, что в растениях околоизогенной линии K-156, которая отличалась от расы Dijon-M множественными полиморфными заменами нуклеотидов (далее, мутантная аллель) в интронах и экзонах гена *Atprx53*, наблюдали некоторые различия паттерна экспрессии этого гена. Например, в ювенильной розетке мутантная аллель гена *Atprx53* экспрессировалась существенно лучше, чем аллель расы Dijon-M. Четкие различия в особенностях экспрессии разных аллелей одного гена *Atprx53* наблюдали и при воздействии стрессовых факторов на растения. Под влиянием ауксина активировалась транскрипция аллели Dijon-M в молодой розетке, но подавлялась транскрипция мутантной аллели в стручке. При воздействии холода и параквата более существенно активировалась транскрипция аллели дикого типа в стебле, которая в обычных условиях транскрибировалась менее эффективно, чем мутантная аллель. Засуха подавляла транскрипцию мутантной аллели и аллели дикого типа в листе, но мутантная аллель сохраняла некоторый уровень транскрипции в отличие от дикого типа. Таким образом, проведенные исследования показали, что пероксидазный ген *Atprx53* более активно экспрессируется в растениях по сравнению с другими генами. Этот ген проявляет органоспецифичность и отвечает изменениями уровня экспрессии на стрессовые воздействия. Кроме того, в работе впервые выявлены различия паттернов экспрессии разных аллелей гена *Atprx53*, что может быть результатом нуклеотидных замен в регуляторных последовательностях.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (проект 07-04-12077-офи), гранта ФЦП «Ведущие научные школы» (НШ-4202.2008.4) и программы РАН «Эволюция биосферы» и «Динамика генофондов растений, животных и человека».

Структурно-функциональный анализ кластера генов *tig-clpP2-clpX*, контролирующего фотоавтотрофный рост у *Synechocystis* sp. PCC 6803

Лучкин Павел Владимирович

аспирант

Московский государственный университет, Москва, Россия

lychkin@mail.ru

Биоинформатический анализ геномов прокариот в них выявил консервативный кластер генов *tig-clpP2-clpX*. Этот кластер обнаружен не только у большинства цианобактерий, например у *Synechococcus* WH 8102, *Synechococcus elongatus* PCC 6301, *Prochlorococcus marinus* CCMP1375, но и у ряда нефотосинтезирующих прокариот, таких как *E. coli* K12, *Salmonella enterica* CT18, *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472, *Xylella fastidiosa*, *Aquifex aeolicus* VF5 и многих других. Для проведения функционального анализа генов этого кластера у цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803 нами была проведена работа по их инсерционной инактивации. Ген *tig*, кодирующий так называемый триггер-фактор (пептидилпропилизомераза, катализирующая фолдинг белков и способствующая работе шаперона GroEL), у цианобактерий впервые был инактивирован в нашей лаборатории. Инсерционный мутант по этому гену не проявил отличий по фенотипу от штамма дикого типа. Ген *clpP2* кодирует протеолитическую субъединицу пептидазы ClpXP. Инсерционная инактивация этого гена сопровождается высокой светочувствительностью [1]. Клетки мутанта имеют нормально функционирующие фотосистемы I и II, но способны к росту за счет фотосинтеза только при низкой интенсивности света. При этом мутантные клетки по сравнению с клетками дикого типа проявляют повышенную устойчивость к агентам, индуцирующим окислительный стресс (метилвиологен и перекись водорода). Однако, конкретная функция гена *clpP2* пока остается неясной. Нам не удалось получить инсерционный мутант по гену *clpX*, кодирующему регуляторную АТФазную субъединицу пептидазы ClpXP. Это свидетельствует о необходимости этого гена для обеспечения жизненно важных функций клеток *Synechocystis* 6803. Попытка инактивировать ген *clpX* у *Synechococcus* 7942 также не имела успеха [2]. Наличие консервативного кластера может свидетельствовать о том, что входящие в него гены формируют оперон. С помощью методов ОТ-ПЦР и Нозерн-блот-гибридизации мы установили, что гены *tig*, *clpP2* и *clpX* организованы в супероперон. Основной промотор расположен перед геном *tig*, а дополнительный – перед геном *clpP2*. Мы также показали, что фенотип мутанта по гену *clpP2* обусловлен не инактивацией гена *clpP2*, а полярным эффектом инсерции на экспрессию гена *clpX*. В этом случае именно ген *clpX* необходим для защиты клеток от фотоинактивации. Механизм взаимодействия генов кластера *tig-clpP2-clpX* остается неизученным даже у такого объекта как *E. coli*. На основе имеющихся данных можно предположить, что все три гена обслуживают единый процесс, в котором ген *tig* участвует в сложном многоступенчатом процессе правильного сворачивания растущей полипептидной цепи, а гены *clpP2* и *clpX* отвечают за деградацию неправильно свернутой или поврежденной молекулы белка.

Работа поддержана грантами РФФИ № 07-04-00117.

Литература

1. Паничкин В.Б., Глазер В.М., Зинченко В.В., Соколенко А., Херрманн Р.Г., Шестаков С.В. (2001) Ген *clpP2*, кодирующий пептидазу у цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803, контролирует чувствительность клеток к фотоингибированию. Известия РАН. Серия биологическая, №3, 296-301. 2. Schelin, J., Lindmark, F. & Clarke, A. K. (2002). The *clpP* multigene family for the ATP-dependent Clp protease in the cyanobacterium *Synechococcus*. *Microbiology*, 148, 2255–2265

Структурно-функциональный анализ фрагмента ОРС2 МДГ4, кодирующего интегразу, у *Drosophila melanogaster*

Маннанова Мария Маратовна

аспирант

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: mananova_m@mail.ru

Значительную часть генома эукариот составляют мобильные генетические элементы (МГЭ). У *Drosophila melanogaster* на их долю приходится около 20% геномной ДНК (1). В последние годы ведутся активные исследования ретротранспозонов *D. melanogaster*, относящиеся к группе *gypsy*. Эти ретротранспозоны характеризуются наличием трех открытых рамок считывания (ОРС), гомологичных ретровирусным генам *gag*, *pol* и *env*. Отличие состоит лишь в том, что у ретротранспозонов неактивна ОРС3, продукт которой ответственен за проникновение ретровируса в клетку. Наиболее хорошо изученным представителем ретротранспозонов группы *gypsy* является МДГ4. Наличие у этого мобильного элемента ОРС3 и его способность проникать в интактные клетки (2), позволяет считать МДГ4 первым ретровирусом, обнаруженным у беспозвоночных. Одним из ключевых ферментов, осуществляющих перемещение ретротранспозона, является интеграна, кодируемая ОРС2 наряду с протеазой, обратной транскриптазой и РНКазой Н.

В настоящей работе проведен структурно-функциональный анализ фрагмента ОРС2 МДГ4, кодирующего интегразу. Фрагмент, кодирующий интегразу, был клонирован в клетках *Escherichia coli*. Клонирование проводили в экспрессионных векторах рЕТ. Для трансформации использовали штамм *Rosetta*, адаптированный для экспрессии эукариотических генов в клетках *E.coli*. В результате клонирования в векторе РЕТ32 был получен выделен белок в нерастворимой форме, что затрудняло дальнейшее исследование его свойств. При повторном клонировании использовали плазмиду рЕТ30. В результате была получена растворимая форма белка интегразы. В настоящее время ведется исследование ее активности.

Литература:

1. Pimpinelly S., Berloco M., Fanti L., Dimitri P., Bonaccorsi S., Marchetti E., Caizzi R., Caggase C., Gatty M 1995 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92: 3804-3908.
2. Kim A., Terzian C., Santamaria P., Pélisson A., Prud'homme N. 1994// Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91: 1285-1289.

Анализ генов-претендентов на роль гена *NFZ24* с помощью компьютерных баз данных

Новокрещенова Мария Габриэловна

Московский Государственный Университет им.М.В.Ломоносова

maria.novok@gmail.com

Arabidopsis thaliana – модельный растительный объект, геном которого полностью секвенирован и для которого созданы обширные базы данных по кДНК и EST (expressed sequence tags – частично отсеквенированные последовательности кДНК), и по анализу экспрессии практически всех генов из генома этого объекта методами микроэррей и микрочипов. Работа с этими базами данных открывает возможности для сравнительного анализа экспрессии генов на разных стадиях онтогенеза, в нормальных условиях и условиях стресса (засоление, засуха, разные условия освещения, и пр.), в условиях воздействия на растения разными фитогормонами и т.д. Ранее в нашей лаборатории методом химически индуцированного мутагенеза была получена линия М-24 (*nfz24*) растений *Arabidopsis thaliana*, которая характеризуется измененным ответом на воздействие гербицидов и чувствительностью к холоду. Также мутант характеризуется замедленным развитием, малым размером, светло-зеленой окраской семядолей, листьев и верхушки цветоноса, сниженным содержанием каротиноидов и хлорофилла. Проведенный молекулярно-генетический анализ позволил определить положение гена *NFZ24* на молекулярно-генетической карте и физической карте в районе от 10 000 до 10 300 тпн [1]. Задачей нашей работы было выявление и секвенирование кандидатных генов на роль гена *NFZ24*. В картированном участке расположены 70 открытых рамок считывания. Также учитывались гены, расположенные рядом с картированным участком, но не вошедшие в него. В результате компьютерного анализа баз данных (<http://signal.salk.edu>, <http://csbdb.mpimp-golm.mpg.de>, www.arabidopsis.org) были выявлены гены, транскрибирующиеся на холоде, стрессовые транскрипционные факторы и гены, продукты которых участвуют в синтезе каротиноидов: *At2g23340* (кодирует белок подсемейства DREB а-5 семейства транскрипционных факторов ERF/AP2, белок содержит одну область AP2, есть 16 членов этой подсемьи, включая RAP2.1, RAP2.9 и RAP2.10), *At2g23670* (кодирует белок с неизвестной функцией, локализованный в люмене), *At2g23680* (предполагаемый белок ответа на абиотический стресс, подобный белку холодовой акклиматизации COR413-PM1 [*Zea mays*]), *At2g23790* (транскрипционный фактор, ген активно транскрибируется на холоде), *At2g23800* (кодирует геранил геранил пирофосфат синтазу) и *At2g24040* (кодирующий белок, предположительно участвующий в холодном ответе). Нуклеотидные последовательности трех генов (*At2g23670*, *At2g23800* и *At2g24040*) из растений расы *Dijon* и мутанта *NFZ24* были амплифицированы и секвенированы и сравнивались с расой *Colombia* из базы данных TAIR. Существенных изменений нуклеотидной и производной аминокислотной последовательностей выявлено не было. Таким образом, нами сужен круг кандидатных генов. Их дальнейший анализ позволит идентифицировать ген *NFZ24*, контролирующий устойчивость растений к холодному стрессу.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (проект 07-04-12077-офи), гранта ФЦП «Ведущие научные школы» (НШ-4202.2008.4) и программы РАН «Динамика генофондов растений, животных и человека».

Литература:

1. Новокрещенова М.Г., Солдатова О.П., Ежова Т.А. Молекулярно-генетическое картирование и функциональный анализ гена *NFZ24*, контролирующего устойчивость растений *Arabidopsis thaliana* к стрессовым факторам // Бюллетень МОИП, 2007, т.112, вып №1, с. 74 -80

**Роль гена *slr1174*, кодирующего белок-транспортер ABC-типа,
в развитии устойчивости к метилвиологену у цианобактерий¹**

Орлов Артем Вадимович, Фантин Юрий Сергеевич²

Студент, младший научный сотрудник

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: bertolet86@mail.ru

Для защиты от окислительного стресса аэробные организмы используют антиоксидантные ферменты, системы репарации поврежденных макромолекул, а также белки-антипортеры, удаляющие из клеток редокс-активные и другие токсичные соединения. Системы последнего типа, нередко обеспечивающие множественную устойчивость клеток, широко распространены у бактерий и эукариот; они подразделяются на несколько больших классов в соответствии с общностью происхождения и молекулярными механизмами действия.

Для изучения генетического контроля устойчивости к индукторам окислительного стресса в нашей лаборатории создана и пополняется коллекция мутантов цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803 с повышенной устойчивостью к метилвиологену (MV; гербицид паракват), менадиону и другим редокс-циклическим агентам. По нашим данным отбор клеток *Synechocystis* по признаку повышенной устойчивости к MV часто приводит к выделению мутантов с инактивацией регуляторного гена *prqR*, негативно контролирующего ген *prqA*, кодирующий предполагаемый антипортер MV. Для исключения отбора *prqR*-мутантов и получения мутантов с нарушением новых функций мы использовали штамм с инсерционной инактивацией гена *prqA* (неревертирующий мутант $\Delta prqA$). На основе данного штамма, характеризующегося пониженной устойчивостью к MV, был выделен спонтанный псевдоревертант r3II с высоким уровнем устойчивости. Молекулярно-генетический анализ псевдоревертанта выявил у него транзицию С343Т в кодирующей последовательности гена *slr1174* с неизвестной функцией; такая нуклеотидная замена приводит к замене аминокислотного остатка аргинина на цистеин в 115 положении белка Slr1174 (миссенс-мутация R115C). Введение этой мутации в ген *slr1174* штамма дикого типа также обуславливает повышение устойчивости к MV, что указывает на независимость проявления мутации от инактивации гена *prqA*. Установлено, что мутация *slr1174R115C* отличается неоморфным характером, поскольку полная (инсерционная) инактивация данного гена не влияет на устойчивость клеток к MV. Таким образом, белок Slr1174, гомологичный транспортерам подсемейства ABC-2, в норме не участвует в транспорте MV, однако при замене положительно заряженного аргинина на полярный цистеин в одной из трансмембранных спиралей может изменять субстратную специфичность и приобретать способность удалять из клетки положительно заряженный MV. С помощью современных подходов биоинформатики и обратной генетики выявлен потенциальный функциональный партнер гена *slr1174* в контроле развития устойчивости цианобактерий к MV; это – ген *slr1901*, кодирующий белок с предполагаемой АТФ-азной активностью, гомолог АТФ-связывающего домена транспортеров ABC-типа. Показано, что инактивация гена *slr1901* в геноме мутанта Slr1174-R115C приводит к снижению устойчивости клеток к MV до уровня устойчивости клеток штамма дикого типа.

¹Тезисы доклада основаны на материалах исследований, проведенных в рамках грантов РФФИ (проект №05-04-49371) и ЦНТП РИ-112/001/211 («Ведущие научные школы»)

²Авторы выражают благодарность за помощь в подготовке и обсуждении тезисов и доклада соавтору работы доценту Бабыкину Михаилу Михайловичу

Определение частот встречаемости аллелей гена *NRF2* у европеоидов новосибирской области

Павел Сергеевич Орлов

Студент

Новосибирский Государственный Университет, Новосибирск, Россия

saintpaul@gorodok.net

В настоящее время в связи с загрязнением окружающей среды, распространением курения и вхождением в нашу жизнь различных синтетических пищевых добавок, лекарственных препаратов и т.д. происходит увеличение заболеваемости различными аллергическими заболеваниями, в том числе астмой и аллергическим дерматитом. Ген *NRF2*, играющий важную роль в регуляции системы чужеродных соединений, исследуется в качестве кандидата в формировании предрасположенности к астме. Целью данного исследования явилось изучение частот встречаемости полиморфизмов -686G>A, -684G>A и -617C>A гена *NRF2* у европеоидов Новосибирской области. Работа проведена на 70 образцах крови детей 5-16 лет. Для полиморфизма G>A в положении -686 и -684 нами предложена аллель-специфичная ПЦР с праймерами следующих последовательностей: для аллеля -686G: Forward (F) 5'-acacgtgggagttcagatgg-3', Reverse (R) 5'-gaaaggcgttggtgtaggag-3'; для аллеля -686A: F 5'-acacgtgggagttcagatga-3', R 5'-gaaaggcgttggtgtaggag-3'. Для аллеля -684G: F 5'-acgtgggagttcagaggtg-3', R 5'-gaaaggcgttggtgtaggag-3'; для аллеля -684A: F 5'-acgtgggagttcagaggtga-3', R 5'-gaaaggcgttggtgtaggag-3. Подбор праймеров и условий реакции осуществляли с помощью программы «Primer 3». Реакция проводилась в объеме 20 мкл, использовали 0,1 мкг геномной ДНК. ПЦР каждого образца ДНК проводили в двух пробирках. ДНК денатурировали в течение 5 мин при температуре 95⁰С, далее следовало 35 циклов 95⁰С-30 сек, 58⁰С-15 сек, 72⁰С-20 сек, конечный цикл 72⁰С-5 мин. Длина продуктов амплификации составляла 270 п.н. для -686G>A и 268 п.н. для -684 G>A. Электрофорез проводили в 1,5% агарозном геле. В результате обеих ПЦР гомозиготы по любому аллелю имели продукт в одной из 2 пробирок, а гетерозиготы - в обеих. Для оценки полиморфизма -617C>A нами предложен метод полиморфизма длин рестрикционных фрагментов с праймерами следующих последовательностей: F 5'-gaatggagacacgtgggag-3' R 5'-ggctaaagattggaccagac-3.' Условия ПЦР были аналогичны приведенным выше, за исключением температуры отжига праймеров, равной 60⁰С. Продукт амплификации 171 п.н. гидролизовали рестриктазой *Bst*NI1 в течение 12ч при 50⁰С. Электрофорез проводили в 3 % агарозном геле. Гомозиготы по аллелю А имели 1 полосу 171 п.н., гомозиготы по аллелю С - 2 полосы 106 и 65 п.н., гетерозиготы все 3 полосы. Частоты встречаемости аллелей составили: -686А - 0.627, -684 G - 0.9, -617 С - 0.88. Распределение генотипов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга. Сравнение полученных нами частот аллелей 686G и 617C с данными по японской популяции выявило статистически значимые различия.

Научный руководитель—канд.биол. наук., О.Г.Сафронова

Молекулярно-генетическое исследование района гена *flamenco* у *Drosophila melanogaster*

Потапова Мария Валерьевна

аспирант

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: maria_potapova@mail.ru

Мобильные генетические элементы (МГЭ) составляют значительную часть генома эукариот. В последние годы ведутся активные исследования ретротранспозонов *D.melanogaster*, относящихся к группе *gypsy* и имеющих сходную структуру с ретровирусами позвоночных. Особое место занимает ретротранспозон МДГ4 (*gypsy*), для которого характерно наличие функционально активного гена *env*, обуславливающего его инфекционность (1, 2). Слишком высокая частота перемещения МГЭ может быть опасна для жизни особи, поэтому существуют механизмы, подавляющие транспозиции. У *D.melanogaster* транспозиции МДГ4 контролирует ген *flamenco*. Получены линии мух SS и MS, имеющие фенотип *flamenco*⁻(3). Детальное исследование области 20A1-5, размером более 300 т.п.н., показало наличие 8 ОРС, предположительно кодирующих гены. Показано, что инсерция расположена на расстоянии 1,5 т.п.н. от начала трансляции гена *DIP1*, функция которого пока не изучена. Мы предполагаем, что ген *DIP1* может участвовать в контроле транспозиции МДГ4. Сразу за геном *DIP1* следуют две ОРС (*CG32500* и *CG32819*), последовательно повторенных три раза (4). Завершает кластер ОРС *CG14476*. Теоретически инсерция может затрагивать регуляторную область любой из ОРС. Однако наиболее вероятно, что она влияет прежде всего на экспрессию гена *DIP1* и, возможно, на соседние с ним гены. Для анализа экспрессии гена *DIP1* на уровне транскрипции были взяты линии *flamenco*⁻: 7k(SS), 145(MS), OreR и линия *flamenco*⁺ - 413. Выявлена зависимость транскрипции гена *DIP1* от возраста мух - на стадии личинок происходит снижение транскрипции - во всех линиях, кроме OreR. Обнаружены отличия в экспрессии гена *DIP1* между линиями *flamenco*⁻ и *flamenco*⁺. В линии OreR не происходит снижения уровня экспрессии этого гена. Полученные данные показывают, что инсерция НВ в гене *DIP1* линий 7k и 145 не только не снижает экспрессию гена *DIP1*, а даже способствует ей (в линии OreR). Анализируя экспрессию генов *CG32500*, *CG32819* и *CG14476*, можно предположить, что эти гены являются жизненно важным, так как транскрибируются на всех стадиях развития во всех исследуемых линиях, лишь на стадии личинок их экспрессия снижена, и продукты сплайсинга являются единственными формами, представленными в базе данных FlyBase. Скорее всего, гены *CG32500*, *CG32819* и *CG14476* не связаны с геном *flamenco*, различий в их экспрессии в линиях *flamenco*⁻ и *flamenco*⁺ не обнаружено. По-видимому, экспрессия этих генов контролируется совместно.

Литература

1. Kim A., Terzian C., Santamaria P., Pélisson A., Prud'homme N. et al. Retroviruses in vertebrates: the gypsy retrotransposon is apparently an infectious retrovirus of *Drosophila melanogaster*. Proc.Natl.Acad.Sci. USA. 1994; 91: 1285-89.
2. Song S.U., Kurkulos M., Boeke J.D., Corces V.G. Infection of the germ line by retroviral particles produced in the follicle cells: a possible mechanism for the mobilization of the gypsy retroelement of *Drosophila*//Development. 1997, 124, 14, 2789-98.
3. Kim A.I., Lyubomirskaya N.V., Belyaeva E.S., Shostak N.G., Ilyin Y.V. The introduction of transposonally active copy of a retrotransposon gypsy into the stable strain of *Drosophila melanogaster*//Mol.Gen.Genet. 1994, 242, 4, 472-7.
4. Robert V., Prud'homme N., Kim A., Bucheton A., Pélisson A.

Characterization of the flamenco Region of the *Drosophila melanogaster* Genome. *Genetics*. 2001; 158: 701-13.

Определение эффективной численности и площади генетического резервата в еловых насаждениях Белоруссии на основе параметров полиморфизма

Степанова Екатерина Михайловна

аспирант¹

Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины, Гомель, Беларусь

E-mail: emstepanova@mail.ru

Одним из способов сохранения генетического разнообразия природных популяций хвойных видов является создание генетических резерватов – участков леса, предназначенных для охраны генетических ресурсов хвойных и их использования в лесовосстановлении и семеноводстве. Размер резерватов нужно определять с учетом научных данных о генетическом потенциале популяций. Такие данные могут быть получены с помощью электрофоретического анализа изоферментов. Целью работы было определение на основе анализа генных маркеров средней площади генетического резервата для ели европейской (*Picea abies*) в Северном лесосеменном подрайоне Белоруссии. В ходе исследования был проведен электрофоретический анализ деревьев *P. abies* по 25 генам из 14 природных популяций Белоруссии и Латвии, а также рассчитаны показатели полиморфизма. В ранее проведенных работах нами был выявлен интенсивный генный поток между белорусскими и латвийскими еловыми насаждениями. Географическая связанность и интенсивный поток способствуют миграции и фиксации в белорусских популяциях латвийских редких и уникальных аллелей, появление которых приведет к увеличению генетического потенциала последующих поколений леса. Поэтому расчет площади резервата *P. abies* в Северном лесосеменном подрайоне Белоруссии проводился с учетом полиморфизма латвийских популяций. Площадь резервата рассчитывалась на основе показателя эффективной численности (N_e), который определялся из соотношения $N_e = 4N_e\mu / (1 + 4N_e\mu)$. В нашей работе μ принималась за $0,5 \times 10^{-5}$. Такая частота мутаций была выявлена при изучении естественного мутагенеза у хвойных пород на незагрязненных радионуклидами территориях Белоруссии и Латвии. Результаты расчетов приведены в таблице.

Таблица. Эффективная численность и площадь генетического резервата, рассчитанные для ели европейской на основании параметра гетерозиготности.

Популяции	N_e	μ	N_e	Площадь резервата, га.
Белорусские	0.175	$0,5 \times 10^{-5}$	10610	38
Белорусско-латвийские	0.184	$0,5 \times 10^{-5}$	11275	44

Как видно из таблицы, показатель N_e в белорусских популяциях составил 0.175. Произведя расчеты, мы получили величину N_e , равную 10610 деревьям. Средняя площадь резервата для древостоя 6Е...(6Е2Д2Ос – ельник дубово-кисличный) I класса бонитета с полнотой 0,5 и густотой 258 экз*га составила 38 га. С учетом полиморфизма латвийских популяций размер генетического резервата увеличивается до 44 га, так как при добавлении латвийских популяций к белорусским повышается общий уровень гетерозиготности ($N_e = 0.184$) и соответственно эффективная численность популяции ($N_e = 11275$). Таким образом, при эксплуатации и любых видах воздействия на популяцию *P. abies* в Северном лесосеменном подрайоне Белоруссии ее размер должен превышать 10610 деревьев, с учетом полиморфизма латвийских популяций – 11275 деревьев.

¹Автор выражает признательность профессору, д.б.н. Гончаренко Г.Г. за помощь в исследованиях.

Генный поток в природных популяциях *Drosophila littoralis*

Сурков Александр Александрович¹

ассистент

УО "Гомельский госуниверситет им. Ф. Скорины", Гомель, Республика Беларусь,

E-mail: surkov@gsu.by

Основным микроэволюционным фактором, сглаживающим действие естественного отбора, дрейфа генов и мутационного процесса, лежащих в основе генетической дифференциации природных популяций, является генный поток [1]. Однако исследований направленных на его измерение у видов *Drosophila* группы *virilis* в Восточной Евразии непосредственно в природных популяциях крайне мало. Целью работы было провести сравнительный анализ уровня генного потока в 14 природных популяциях у вида *Drosophila littoralis* Meigen в Восточной Евразии на основе использования в качестве молекулярно-генетических маркеров 14 генов кодирующих изоферменты [2]. Величина генного потока ($N_e m$) рассчитывалась по количеству мигрантов на поколение и определялась из соотношения $N_e m(F) = (1 - F_{ST}) / 4F_{ST}$ [3], где F_{ST} - коэффициент подразделенности популяций [5]. В основе этого метода, лежит представление, по которому частота редкого аллеля встретившегося у вида только в одной популяции является отражением степени генетической изолированности популяций и уровня обмена генетическим материалом между ними. Чем больше частоты уникальных аллелей, тем дольше популяции находились в изоляции и, соответственно, меньше обменивались друг с другом наследственным материалом [4]. Генный поток вычислялся как для всех 14 исследованных популяций *D. littoralis* Восточной Евразии, так и для европейско-сибирских, европейских, восточно-европейских и центрально-европейских популяций отдельно, результаты сведены в таблицу.

Таблица - Показатели генного потока и уровня генетической изменчивости у *D. littoralis* в популяциях Восточной Евразии

Популяции	F_{ST}	$N_e m(F)$
Европейско-сибирско-тянь-шаньские	0.043	5.56
Европейско-сибирские	0.039	6.16
Европейские	0.035	6.89
Восточно-европейские	0.030	8.08
Центрально-европейские	0.026	9.37

В целом полученные результаты по генному потоку хорошо соответствуют характеру распределения и взаимосвязи популяций у *D. littoralis* в восточно-евразийском регионе (Гончаренко и др. 2004) и подтверждают то, что между исследованными популяциями существует обмен генетическим материалом.

¹ Автор выражает признательность чл.-корр. НАН Беларуси, д.б.н., профессору Гончаренко Г.Г. за помощь в подготовке тезисов.

Литература

1. Корочкин Л.И. (2002) Биология индивидуального развития (генетический аспект): учебник / Л.И. Корочкин. – М.: МГУ, 2002.
2. Гончаренко Г.Г., Сурков А.А., Митрофанов В.Г., Корочкин Л.И. (2004) Генетико-эволюционные и таксономические взаимоотношения у видов-двойников *Drosophila* группы *virilis* Палеарктики // Известия Гомельского государственного университета им. Ф. Скорины. – №3. – С. 144-157.
3. Slatkin, M. (1985a) Gene flow in natural populations // Ann. Rev. Ecol. Syst. - Vol. 16.
4. Slatkin, M. (1985b) Rare alleles as indicators of gene flow // Evolution. - Vol. 39.

5. Wright, S. (1965) The interpretation of population structure by F-statistics with special regards to systems of mating / S. Wright // Evolution. - V. 19. p. 395-420.

Молекулярно-генетические маркеры аэробной и анаэробной выносливости**¹Шебанова А.С.; ¹Бондарева Э.А.; ¹Ростовцева Е.В.; ¹Агапов И.И.; ²Трофимов Д.Ю.;
³Тоневецкий А.Г.***Студент; аспирант; аспирант; д.б.н., профессор; к.б.н., сотрудник; д.б.н., профессор.**¹Московский Государственный Университет им. М.В.Ломоносова, ²ЗАО «НПФ ДНК-Технология», ³Всероссийский Научно-Исследовательский Институт Физической**Культуры и Спорта, Москва, Россия**E-mail: nastya.shebanova@gmail.com*

Спортивные достижения и успешность спортсмена зависят от многих факторов: тренировок, окружающей среды, а также от генетической предрасположенности. Генетические основы различий в атлетических качествах отражаются в создаваемой карте человеческих генов, ответственных за фенотип спортсмена. При выполнении упражнений в той или иной спортивной дисциплине очень важным является такое физическое качество, как выносливость. Одними из первых генов, полиморфизмы которых были ассоциированы с выносливостью спортсменов, являются гены ангиотензин I – превращающего фермента (ACE) и ген альфа-актинина 3 (α-ACTN3). ACE входит в состав двух гормональных систем, регулирующих давление и объём крови: ренин-ангиотензиновой и кинин-калликреиновой. Данный фермент участвует в вазоконстрикции и повышении кровяного давления. Белок альфа-актинин 3 входит в состав Z-пластины саркомера и участвует в закреплении на ней тонких филаментов, стабилизации сократительного аппарата и регуляции процесса сокращения. В нашем исследовании проводилось генотипирование 900 элитных спортсменов олимпийского резерва, выступающих в 35 различных видах спорта, по полиморфизмам двух генов: ACE (инсерция/делеция 287-нуклеотидной последовательности, I/D-полиморфизм, rs4340) и α-ACTN3 (C/T SNP-полиморфизм, rs1815739). Частоты встречаемости генотипов и аллелей сравнивали в трех репрезентативных выборках, сформированных по характеру получения энергии во время выполнения физических упражнений: группа видов спорта с анаэробным механизмом получения энергии (скоростно-силовые виды спорта), группа видов спорта с преимущественно аэробными нагрузками (виды спорта, требующие выносливости) и комбинированная группа. Биологическим материалом для выделения ДНК являлась венозная кровь спортсменов. ДНК из крови выделяли методом фенол-хлороформной экстракции. Полиморфизмы генов ACE и α-ACTN3 определяли при помощи метода ПЦР с детекцией в режиме реального времени. Статистический анализ распределения генотипов в исследуемых группах проводили при помощи критерия χ^2 (хи - квадрат). Анализ распределения частот генотипов гена ACE выявил статистически значимые различия между аэробной и анаэробной группами, а также между аэробной и комбинированной группами. Частота встречаемости генотипа DD у спортсменов в группе видов спорта, требующих проявления выносливости, оказалась ниже, чем среди спортсменов в скоростно-силовых видах спорта (17,52% против 28,76%, $P < 0,05$). Аналогично, частота генотипа DD в группе аэробных видов спорта оказалась ниже, по сравнению группой с комбинированных видов спорта (17,52% против 24,47%, $P < 0,05$). Распределение частот генотипов гена α-ACTN3 не имело статистически значимых различий между исследованными группами. Присутствие в гаплотипе спортсмена D-аллеля гена ACE приводит к увеличению содержания в скелетной мышце быстрых гликолитических мышечных волокон, обеспечивающих проведение мощных кратковременных сокращений. Результаты проведённого исследования позволяют предположить, что обладатели DD генотипа более предрасположены к выполнению кратковременных высокоинтенсивных упражнений, чем к выполнению упражнений, требующих аэробной выносливости.