

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
Программа фундаментальных исследований Президиума РАН
«Молекулярная и клеточная биология»
Сибирское отделение СО РАН

Координатор Программы академик Г.П. Георгиев
Координатор Программы по Сибирскому отделению академик И.Ф. Жимулев

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ
на Отчетной конференции
по программе фундаментальных исследований Президиума РАН
«Молекулярная и клеточная биология»
(по результатам 2012 - 2013 гг.)

Новосибирск
2013

Эпигенетический и транскрипционный статус X-хромосомы человека в плюрипотентных стволовых клетках и их дифференцированных производных

Шевченко А.И., Захарова И.С., Закиян С.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10

В данной работе показано, что ПСК человека характеризуются различным эпигенетическим статусом X-хромосом, который демонстрирует высокую динамичность и нестабильность. Обнаружено отсутствие четкой связи между характеристиками хроматина и транскрипционной активностью генов X-хромосомы. В частности, показано, что, несмотря на активный хроматин, транскрипция генов на одной из двух X-хромосом может быть инактивирована. Предложены подходы для детекции транскрипционной активности генов X-хромосом в линиях ИПСК и их дифференцированных производных. Показано, что плюрипотентные стволовые клетки, имеющие X-хромосому с инактивированной транскрипцией, поддерживают транскрипционный сайленсинг X-сцепленных генов в дифференцированных производных. При дифференцировке ПСК с двумя транскрипционно активными X-хромосомами в дифференцированных клетках наблюдается случайная инактивация транскрипции на одной из двух X-хромосом, при этом инактивированная X-хромосома может как иметь, так и не иметь признаки неактивного хроматина. Выявлено, что при дифференцировке клеток плюрипотентной линии эмбриональных стволовых клеток человека HUES9 случайная инактивация транскрипции на одной из двух X-хромосом не связана с активностью гена *XIST*, до сих пор считавшегося ключевым геном, абсолютно необходимым для инициации инактивации X-хромосомы, и происходит без привлечения характерных для этого процесса модификаций хроматина. Анализ экспрессии гена *XIST* показал, что как в недифференцированных, так и в дифференцированных клетках линии HUES9 он находится в неактивном состоянии, а его промотор сохранил исходное метилированное состояние. Полученные результаты позволяют заключить, что в инактивации X-хромосомы человека задействован пока неизвестный независимый от экспрессии гена *XIST* механизм, который способен обеспечивать инактивацию транскрипции и сбалансированный уровень экспрессии генов при дифференцировке клеток.

Публикации:

1. Шерстюк В. В., Шевченко А. И., Мазурок Н. А., Закиян С. М. Активность ориджинов репликации в центре инактивации X-хромосомы полевки в различных типах клеток // Доклады академии наук. 2013. Т. 450. № 5. С. 606-608

Влияние нуклеотидных замен в ТАТА боксах генов человека на связывание с ТВР белком: ассоциация с заболеваниями

Савинкова Л.К., Драчкова И.А., Аршинова Т.В., Пономаренко П.М., Пономаренко М.П., Колчанов Н.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10

Создан метод предсказания величин изменения сродства ТАТА-связывающего белка к ассоциированным с патологиями аллельным вариантам ТАТА-боксов промоторов генов человека. Впервые на примере 27 ассоциированных с 10 патологиями аллельных вариантов ТАТА-боксов генов человека (талассемия, боковой амиотрофический склероз, иммуносупрессия, рак легких, тромбоз и др.) было проведена компьютерно-экспериментальная проверка эмпирического уравнения констант равновесия скольжения ТВР вдоль ДНК до остановки на ТАТА-боксе и стабилизации ТВР/ТАТА-комплекса изгибом спирали ДНК. Она установила значимые корреляции между предсказанными и измеренными оценками ТВР/ТАТА-сродства, абсолютными ($r=0.82$, $\alpha < 10^{-7}$) и относительными ($r=0.79$, $\alpha < 10^{-3}$).

Публикации:

1. Savinkova L.K., Drachkova I.A., Arshinova T.V., Ponomarenko P.M., Ponomarenko M.P., Kolchanov N.A. An experimental verification of the predicted effects of promoter TATA-box polymorphisms associated with human diseases on interactions between the TATA boxes and TATA-binding protein. // PLoS ONE. 2013. V. 8. N. 2, P. e54626.
2. Ponomarenko M.P., Suslov V.V., Ponomarenko P.M., Gunbin K.V., Stepanenko I.L., Vishnevsky O.V., Kolchanov N.A. Abundances of microRNAs in human cells can be estimated as a function of the abundances of YRHB and RHHK tetranucleotides in these microRNAs as an ill-posed inverse problem solution. // Front Genet. 2013. V. 4, N. 2. P. 122.
3. Pintus SS, Ivanisenko NV, Demenkov PS, Ivanisenko TV, Ramachandran S, Kolchanov NA, Ivanisenko VA. The substitutions G245C and G245D in the Zn(2+)-binding pocket of the p53 protein result in differences of conformational flexibility of the DNA-binding domain. J Biomol Struct Dyn. 2013;31(1):78-86.
4. Levitsky VG, Babenko VN, Vershinin AV. The roles of the monomer length and nucleotide context of plant tandem repeats in nucleosome positioning. J Biomol Struct Dyn. 2013 Feb 5. [Epub ahead of print]
5. Kulakovskiy I, Levitsky V, Oshchepkov D, Bryzgalov L, Vorontsov I, Makeev V. From binding motifs in chip-seq data to improved models of transcription factor binding sites. J Bioinform Comput Biol. 2013 Feb;11(1):1340004
6. Matushkin YG, Levitsky VG, Orlov YL, Likhoshvai VA, Kolchanov NA. Translation efficiency in yeasts correlates with nucleosome formation in promoters. J Biomol Struct Dyn. 2013 31(1):96-102.
7. Mironova V.V., Omelyanchuk N.A., Savina M.S., Ponomarenko P.M., Ponomarenko M.P., Likhoshvai V.A., Kolchanov N.A. How multiple auxin responsive elements interact in plant promoters: evidences from a reverse problem solution. Journal of Bioinformatics and Computational Biology. J Bioinform Comput Biol 11(1): 1340011, 2013
8. Novoselova ES, Mironova VV, Omelyanchuk NA, Kazancev FV, Likhoshvai VA. Mathematical modeling of auxin transport in protoxylem and protophloem of Arabidopsis thaliana root. Journal of Bioinformatics and Computational Biology. J Bioinform Comput Biol 11(1): 1340010, 2013.

9. N. Bessonov, V. Mironova, V. Volpert. Elastic cell model of plant meristem growth. Mathematical modelling of natural phenomena. Mathematical Modelling of Natural Phenomena. Volume 8. Issue 04. pp 62-79.
10. Likhoshvai V.A., Fadeev S.I., Kogai V.V., Khlebodarova T.M. On the chaos in gene networks. J. Bioinform. Comput. Biol., 2013, 11(1): 1340009.
11. Igor I. Titov and Pavel S. Vorozheykin. Ab initio human miRNA and pre-miRNA prediction. J. Bioinformatics and Computational Biology. Vol.11. #6 (DOI: 10.1142/S0219720013430099 Accepted: 10 October 2013)
12. S. A. Lashin, E. A. Mamontova, Yu. G. Matushkin, Spatially Distributed Modeling of Prokaryotic Community Evolution, Rus. J Genet.: Ap. Res., 2013, Vol. 3, No. 3, pp. 184–190.
13. Дорошков А.В., Афонников Д.А., Пшеничникова Т.А. (2013) Генетический анализ опушения листа у изогенных линий мягкой пшеницы сорта Новосибирская 67. Генетика, Т. 49, N. 12, с.1-9.
14. Хлебодарова Т.М., Ощепков Д.Ю., Тикунова Н.В., Бабкин И.В., Груздев А.Д., Лихошвай В.А.. Реконструкция механизмов регуляции экспрессии гена *yfiA* *Escherichia coli* в условиях стресса. Вавиловский журнал генетики и селекции, 2013, Т.17, №1, С.104-113
15. Лихошвай В.А., Хлебодарова Т.М. Согласование темпов роста объема клетки и репликации ДНК: математическая модель. Матем. биология и биоинформ. 2013. Т. 8. № 1. С. 66–92.
16. Хлебодарова Т.М. Когай В.В., Акбердин И.Р., Ри Н.А. Фадеев С.И., Лихошвай В.А. Моделирование утилизации нитрита клетками *Escherichia coli*: анализ потоков. Матем. биология и биоинформ. 2013. Т. 8. № 1. С.268–286.
17. Акбердин И.Р., Казанцев Ф.В., Ермак Т.В., Тимонов В.А., Хлебодарова Т.М., Лихошвай В.А. «Электронная клетка»: проблемы и перспективы. Матем. биология и биоинформ. 2013. Т. 8. № 1. С. 287–307.
18. Матушкин Ю.Г., Левицкий В.Г., Соколов В.С., Лихошвай В.А., Орлов Ю.Л. Эффективность элонгации генов дрожжей коррелирует с плотностью нуклеосомной упаковки в 5'-нетранслируемом районе. Математическая биология и биоинформатика. 2013. Т. 8. No 1. С. 248–257.
19. О.А. Подколотная. Молекулярно-генетические аспекты взаимодействия циркадных часов и метаболизма энергетических субстратов млекопитающих. Генетика. (принята в печать)
20. Колчанов Н.А., Игнатъева Е.В., Подколотная О.А., Лихошвай В.А., Матушкин Ю.Г. Генные сети. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013, №4. (принята к печати)
21. Комышев Е.Г., Генаев М.А., Гунбин К.В., Афонников Д.А. (2013) BioUniWA – система генерации web-сервисов и конвейеров для унифицированного доступа к ресурсам в области биоинформатики. Вавиловский журнал генетики и селекции, 2013, (принята к печати)
22. Орлов Ю.Л. (2013) Компьютерное исследование регуляции транскрипции генов эукариот с помощью данных экспериментов секвенирования и иммунопреципитации хроматина // Вавиловский журнал генетики и селекции. (принята к печати).

Характеристика культур кардиальных мезенхимальных клеток из экспланта сердечной мышцы человека

Е.А. Покушалов^{1,3}, С.В. Павлова^{1,2,3}, А.А. Малахова^{1,2,3}, Е.В. Чепелева^{1,2,3},
Е.В. Дементьева^{1,2,3}, С.М. Закиян^{1,2,3}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск;

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск;

³ФГБУ Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. акад. Е.Н. Мешалкина Минздравсоцразвития России, г. Новосибирск;

Стволовые клетки сердца (СКС) имеют большие перспективы в лечении сердечно-сосудистых заболеваний человека. Основной характеристикой СКС является наличие тиразин-киназного рецептора *c-Kit*. В нашей работе были получены и охарактеризованы первичные культуры клеток из эксплантов сердца человека и показано, что 4% клеток несут на своей поверхности маркер *c-Kit*, что доказывает способность СКС мигрировать из экспланта и пролиферировать *in vitro*. В СКС клетках, сортированных методом MACS, выявляется экспрессия генов *c-Kit*, *OCT4*, *Nanog*, *CD31*, *VE-cadherin*, *VEGFR2*, что свидетельствует о коммитированности СКС в эндотелиальном направлении. При обработке дексаметазоном СКС дифференцируются в кардиомиоцитарном направлении, при культивировании в слое коллагена 1 типа – в эндотелиальном направлении.

Также было показано, что при культивировании экспланта происходит миграция клеток эндотелия и перицитов из микрососудов. Добавление в ростовую среду факторов EGF и VEGF приводит к увеличению доли CD31-позитивных клеток до 80%. Отличительным свойством перицитов является экспрессия эндогенной щелочной фосфатазы, которая выявляется в 4% клеток культуры. Совместное культивирование перицитов и эндотелиальных клеток на матриксе приводит к формированию капилляроподобных структур. Таким образом, помимо того, что эксплантная культура является источником региональных кардиальных стволовых клеток, она обладает ангиогенным потенциалом.

Внеклеточные дезоксирибонуклеиновые кислоты: поиск функционально значимых последовательностей и исследование их биологических свойств.

Лактионов П.П.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск;

Внеклеточные дезоксирибонуклеиновые кислоты были обнаружены в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. Нами было показано, что значительная часть внеклеточных ДНК связана с поверхностью клеток. Поскольку связывание нуклеиновых кислот с клетками является необходимым этапом транспорта ДНК в клетки и, таким образом, ключевым моментом, который определяет эффекты нуклеиновых кислот, мы исследовали внеклеточные ДНК, прочно связанные с поверхностью клеток. Был разработан метод выделения ДНК, прочно связанных с поверхностью клеток и идентифицированы ДНК-мотивы, прочно связанные с поверхностью эндотелиоцитов. Было исследовано иммуномодулирующее действие внеклеточных ДНК, связанных с поверхностью клеток, и олигонуклеотидов, содержащих прочно связанные с поверхностью клеток ДНК-последовательности. Показано, что такая ДНК и олигонуклеотиды ингибируют активацию клеток под действием двуцепочечной РНК, идентифицированы внутриклеточные белки, связывающие такие олигонуклеотиды. Планируется выяснить роль обнаруженных белков в реализации иммуноингибирующего действия ДНК при помощи экспериментов с нокаутными по этим белкам линиям клеток.

Публикации:

1. Anna V. Cherepanova, Alexander V. Bushuev, Maria V. Kharkova, Valentin V. Vlassov, Pavel P. Laktionov. DNA inhibits dsRNA-induced secretion of pro-inflammatory cytokines by gingival fibroblasts. // *Immunobiology* / 2013 Feb; 218(2). –P. 272-80. doi: 10.1016/j.imbio.2012.05.017. Epub 2012 Jun 5.
2. Olga Bryzgunova, Pavel Laktionov, Tatyana Skvortsova, Anna Bondar, Evgeniy Morozkin, Alena Lebedeva, Hans Krause, Kurt Miller, Valentin Vlassov. Efficacy of bisulfite modification and recovery of human genomic and circulating DNA using commercial kits // *European Journal of Molecular Biology* / 2013. 1(1) –P. 1-8 Published online February 20, 2013 (<http://www.sciencepublishinggroup.com/j/ejmb>) doi:10.11648/j.ejmb.20130101.11
3. Evgeniy S. Morozkin, Tatyana V. Karamysheva, Pavel P. Laktionov, Valentin V. Vlassov, and Nikolay B. Rubtsov, DNA Probes for FISH Analysis of C-Negative Regions in Human Chromosomes // *Methods in Molecular Biology* / vol. 1039, DOI 10.1007/978-1-62703-535-4_19, © Springer Science+Business Media New York 2013, – P. 233-242.
4. Ponomaryova AA, Rykova EY, Cherdyntseva NV, Skvortsova TE, Dobrodeev AY, Zav'yalov AA, Bryzgalov LO, Tuzikov SA, Vlassov VV, Laktionov PP. Potentialities of aberrantly methylated circulating DNA for diagnostics and post-treatment follow-up of lung cancer patients // *Lung Cancer* / 2013. Sep;81(3) –P. 397-403. doi: 10.1016/j.lungcan.2013.05.016. Epub 2013 Jun 24. PMID: 23806794 [PubMed - in process]
5. Petrova N.S., Zenkova M.A., Chernolovskaya E.L. Structure-Functions Relations in Small Interfering RNAs // *Practical Applications in Biomedical Engineering* / Ed.by Andrade A.O., Pereira A.A., Naves E.L.M., Soares A.B. – Rijeka, Croatia: InTech, 2013. – P. 187-228
6. Chernolovskaya E.L., Zenkova M.A. Design of Nuclease-Resistant Fork-Like Small Interfering RNA (fsiRNA) // *siRNA Design: Methods and Protocols* / Ed. by D.J.

- Taxman. – N.-Y.: Humana Press, 2013. – P. 153 – 168. (Methods in Molecular Biology, vol.942. – Springer Protocols)
7. Гусаченко О.Н., Зенкова М.А., Власов В.В. Нуклеиновые кислоты экзосом: маркеры заболеваний и молекулы межклеточной коммуникации // Биохимия. – 2013. – Т. 78, № 1. – С. 5 – 13
 8. Zonov E.V., Voronina E.I., Zenkova M.A., Ageeva T.A., Ryabchikova E.I. Influence of polychemotherapy on the morphology of metastases and kidney of resistant RLS-bearing mice // Experimental Oncology. – 2013. – V. 35, N. 1. – P. 30 – 36.
 9. Воронина Е.И., Сенькова А.В., Агеева Т.А., Зенкова М.А. Варианты опухолевой прогрессии в исходно фенотипически различных экспериментальных лимфосаркомах // Бюллетень СО РАМН. – 2013. – Т.33, № 1. – С. 5 – 9.
 10. Петров И.С., Гончарова Е.П., Колосова И.В., Поздняков С.Г., Щелкунов С.Н., Зенкова М.А., Власов В.В. Противоопухолевое действие рекомбинантного вируса осповакцины LIVP-GFP // Доклады Академии наук. – 2013. – Т.451, № 5. – С. 592 – 597.
 11. Mironova N.L., Petrushanko I.V., Patutina O.A., Senkova A.V., Simonenko O.V., Mitkevich V.A., Markov O.V., Zenkova M.A., Makarov A.A. Ribonuclease binase inhibits primary tumor growth and metastases via apoptosis induction in tumor cells // Cell Cycle. – 2013. – V.12, iss.13. – P. 2120 -2131.
 12. Ivanova E.A., Maslov M.A., Kabilova T.O., Puchkov P.A., Alekseeva A.S., Boldyrev I.A., Vlassov V.V., Serebrennikova G.A., Morozova N.G., Zenkova M.A. Structure-transfection activity relationships in a series of novel cationic lipids with heterocyclic head-groups // Organic and Biomolecular Chemistry. – 2013. – V. 11. – P. 7164 – 7178.
 13. Brenner E.V., Brouchkov A.V., Kurilshikov A.M., Griva G.I., Kashuba E., Kashuba V.I., Melefors O., Repin V.E., Melnikov V.P., Vlassov V.V. Draft genome sequence of Bacillus cereus strain F, Isolated from ancient permafrost // Genome Announcements. – 2013. – V.1, Iss.4. – e00561-13.

Отправленные статьи.

1. Давыдова А.С., Воробьева М.А., Зенкова М.А., Сильников В.Н., Франсуа Ж.-К., Веняминова А.Г. Новый способ удаления клеточных РНК при отборе модифицированных РНК-аптамеров методом selex на клетки // Молекулярная биология. Принято 25.06.2013.
2. Mironova N., Patutina O., Brenner E., Kurilshikov A., Vlassov V., Zenkova M.A. miRNA drop in the bloodstream and miRNA boost in the tumor causer by the treatment with RNase A provide an attenuation of tumor malignancy // PLOS One, октябрь 2013.
3. Salomatina O.V., Markov A.V., Logashenko E.B., Korchagina D.V., Zenkova M.A., Salakhutdinov N.F., Vlassov V.V. Tolstikov G.A. Synthesis of novel 2-cyano substituted glycyrrhetic acid derivatives as inhibitors of cancer cells growth and NO production in LPS-activated J-774 cells // Bioorganic and Medicinal Chemistry. Принята 29.10.2013.

Отправленные заявки на патент.

1. Способ очистки вируса осповакцины или его рекомбинантных вариантов. Гончарова Е.П., Петров И.С., Зенкова М.А. // Заявка июль 2013.

Патенты.

1. Средство для инактивации ДНК-вирусов. Федорова А.А., Гончарова Е.П., Королева Л.С., Сильников В.Н., Власов В.В., Зенкова М.А. // Патент № 2480478. Приоритет изобретения от 20.02.2012 г. Дата регистрации 27.04.2013.
2. Средство, проявляющее противовирусную активность в отношении ДНК-вирусов. Федорова А.А., Гончарова Е.П., Буракова Е.А., Сильников В.Н., Власов В.В., Зенкова М.А. // Патент № 2487876. Приоритет изобретения 29.02.2012 г. Дата регистрации 20.07.2013.

Тезисы конференций.

1. Zenkova M.A., Staroselec Ya.Yu., Brenner E.V., Vlassov V.V. Identification of recombinant product of non-enzymatic reaction of RNA cleavage/ligation // The First Meeting in the Frame of French-Siberian Centre of Research and Education “ Nucleic Acid – Protein Interactions for life sciences”. - Russia, Novosibirsk, May 13 – 15, 2013. – P.59. Устный доклад.
2. Kabilova T., Chernolovskaya E., Zenkova M., Vlassov V.V. Nucleic acid based anticancer therapeutics // The First Meeting in the Frame of French-Siberian Centre of Research and Education “ Nucleic Acid – Protein Interactions for life sciences”. - Russia, Novosibirsk, May 13 – 15, 2013. – P.61. Устный доклад.
3. Mironova N.L., Patutina O.A., Brenner E.V., kurilshikov A.M., Vlassov V.V., Zenkova M.A. Identification of molecular targets of RNase a in antitumor therapy // The First Meeting in the Frame of French-Siberian Centre of Research and Education “ Nucleic Acid – Protein Interactions for life sciences”. - Russia, Novosibirsk, May 13 – 15, 2013. – P.63. Устный доклад.
4. Петров И.С., Гончарова Е.П., Зенкова М.А. Противоопухолевая активность рекомбинантного вируса осповакцины LIVP-GFP // Сб. тезисов VI Всероссийского с международным участием Конгресса молодых ученых-биологов «Симбиоз_Россия 2013». – 19 – 23 августа 2013, Иркутск - С.438 – 440. Устный доклад.
5. Chernikov I., Petrova N., Meschaninova M., Dovydenko I., Venyaminova A., Zenkova M., Vlassov V., Chernolovskaya E. The interaction of lipophilic derivatives of siRNA with hematopoietic and tumor cells // FEBS Journal. – 2013. – V. 280, Suppl. 1. – P. 81-82. Постерный доклад.
6. Kabilova T.O., Kovtonyuk L.V., Ryabchikova E.I., Zonov E.V., Popova N.A., Nikolin V.P., Zenkova M.A., Vlassov V.V., Chernolovskaya E./L/ Immunostimulatory properties and antitumor activity of short double-stranded RNA against hepatocarcinoma G29 and melanoma B 16 // 15 ICI immunitas vis naturae / - Milan, 22 – 27 august, 2013. – P. 152.
7. Zenkova M.A., Mironova N.L., Patutina O.A., Brenner E.V., Kurilshikov A.M., Vlassov V.V. miRNA boost in the tumor and miRNA drop in the blood serum caused by treatment with RNase A promote an attenuation of tumor malignance // From Molecular to Cellular events in Human Pathologies. – 17-18 October, 2003. - С. 36. Устный доклад.
8. Chernolovskaya E.L., Chernikov I.V., Meshaninova M.I., Dovydenko I.S., Venyaminova A.G., Zenkova M.A., Vlassov V.V. The interaction of lipophilic derivatives of siRNA with hematopoietic and tumor cells // From Molecular to Cellular events in Human Pathologies. – 17-18 October, 2003. - С.10. Устный доклад.
9. Chernolovskaya E.L., Kabilova T.O., Kovtonyuk L.V., Ryabchikova E.I., Zonov E.V., Popova N.A., Nikolin V.P., Kaledin V.I., Zenkova M.A., Vlassov V.V. Short Double-stranded RNA with Immunostimulatory Activity as Antitumor and Antimetastatic Agents // 9 Annual Meeting of the Oligonucleotide Therapeutics Society. – 6 – 8 October, 2013. – P.96. Постер.
10. Zenkova M.A., Mironova N.L., Patutina O.A., Brenner E.V., Kurilshikov A.M., Vlassov V.V. miRNA Boost in the Tumor and miRNA Drop in the Blood Serum Caused by Treatment with RNase A Promote an Attenuation of Tumor Malignancy // 9 Annual Meeting of the Oligonucleotide Therapeutics Society. – 6 – 8 October, 2013. – P.215. Постер.
11. О.Е. Брызгунова, Н.С. Дырхеева, Е.С. Морозкин, М.М. Зарипов, Е.Д. Чикова, В.В. Власов, П.П. Лактионов. **Внеклеточные микровезикулы в моче здоровых доноров и больных раком предстательной железы.** VI Всероссийский с международным участием Конгресс молодых ученых-биологов «Симбиоз-Россия 2013». Иркутск, 19-23 августа, 2013 г. С. 269-270. Постер
12. О.Е. Брызгунова, Н.С. Дырхеева, Е.С. Морозкин, М.М. Зарипов, Е.Д. Чикова, Е.И. Рябчикова, В.В. Власов, П.П. Лактионов. **Внеклеточные микровезикулы в моче онкологических больных.** Ежегодная научная конференция «Фундаментальные науки – медицине». Новосибирск, 16-20 сентября, 2013 г. С. 121. Постер
13. А.А. Бондарь, Е.С. Морозкин, О.Е. Брызгунова, М.М. Зарипов, В.Е. Войцицкий, Е.Д. Чикова, В.В. Власов, П.П. Лактионов. **Поиск эпигенетических маркеров рака предстательной железы в циркулирующей ДНК плазмы крови.** Ежегодная научная конференция «Фундаментальные науки – медицине». Новосибирск, 16-20 сентября, 2013 г. С. 117. Постер
14. Бондарь А.А., Cortese R., Брызгунова О.Е., Рыкова Е.Ю., Зарипов М.М., Войцицкий В.Е., Ярмошук С.В., Чикова Е.Д., Пермякова В.И., Пономарева А.А., Юрмазов З.А., Усынин Е.А., Слонимская Е.М., Чердынцева Н.В., Petronis A., Власов В.В., Лактионов П.П. **Поиск**

эпигенетических маркеров рака предстательной железы в циркулирующей ДНК плазмы крови. VIII региональная конференция молодых ученых-онкологов, посвященная памяти академика РАМН Н.В. Васильева «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической онкологии». Томск, 26 апреля, 2013 г. Сибирский онкологический журнал, приложение №1, С. 17-18. Доклад

15. A. Cherepanova, V. Vlassov and P. Laktionov. **Ku protein as an intracellular target of extracellular DNA.** 37th FEBS Congress «Mechanisms in biology» // Санкт-Петербург, Россия, 05-11 июля 2013. FEBS J. V. 280. Suppl. 1, p. 80. Постер

16. E.Y. Rykova, E.S. Morozkin, E.M. Loseva, A.A. Ponomaryova, A.M. Kurilshikov, I.V. Morozov, I.S. Zaporozhchenko, K.Y. Kapitskaya, T.L. Azhikina, L.O. Bryzgalov, E.V. Antontseva, T.I. Merkulova, N.V. Cherdyntseva, V.V. Vlassov, P.P. Laktionov

Circulating DNA for cancer diagnostics: concentration, epigenetic characteristics, association with blood complexes and cells. “Nucleic Acid - Protein Interactions for Life Sciences”, 13-15 мая 2013 г. ИХБФМ СО РАН. Доклад

17. Anna Cherepanova, Tat'jana Duzhak, Valentin Vlassov, Pavel Laktionov.

Intracellular targets of immunoinhibiting extracellular DNA. “Nucleic Acid - Protein Interactions for Life Sciences”, 13-15 мая 2013 г. ИХБФМ СО РАН. Доклад

18. S. Tamkovich, T. Duzhak, E. Ryabchikova, N. Kirushina, V. Permyakova, V. Voicitskyi, V. Vlassov, P. Laktionov. **Proteomic analysis of exosomes from blood of healthy donors and breast cancer patients.** “Nucleic Acid - Protein Interactions for Life Sciences”, 13-15 мая 2013 г. ИХБФМ СО РАН. Постер

19. Anna V. Cherepanova, Valentin V. Vlassov, Pavel P. Laktionov. **Anti-inflammatory action of ODNs - analogs of cell-surface-bound extracellular DNA.** International meeting on Cell-free DNA, Copenhagen 20-21 June 2013. Постер

20. А.О. Лебедева, Ю.В. Афонин, А.Ю. Демьянова, М.В. Коробейников, А.С. Юношев, А.А. Карпенко, И.В. Попова, Е.А. Покушалов, А.Е. Акулов, А.В. Ромащенко, П.П. Лактионов. **Электронно-лучевая обработка протезов сосудов, изготовленных методом электроспиннинга.** V всероссийская конференция «Взаимодействие высококонцентрированных потоков энергии с материалами в перспективных технологиях и медицине», 26-29 марта 2013 года. Доклад

21. A.O. Lebedeva, Yu.V. Afonin, A.V. Cherepanova, A.Yu. Demianova, M.V. Korobeinikov, A.S. Yunoshev, A.A. Karpenko, I.V. Popova, E.A. Pokushalov, P.P. Laktionov. **Biocompatibility of electrospun produced vascular grafts and modification of their stiffness with electron-beam irradiation.** TERMIS-EU-2013 (Tissue Engineering and Regenerative Medicine Society), 17-20 июня 2013 года, г. Стамбул, Турция. Постер

22. Лосева Е.М., Брызгалов Л.О., Морозкин Е.С., Курильщикова А.М., Морозов И.В., Антонцева Е.В., Рыкова Е.Ю., Меркулова Т.И., Власов В.В., Лактионов П.П. **Функциональная значимость фрагментов генома, генерируемых в результате апоптоза.** International conference “High-throughput sequencing in genomics” // Novosibirsk, Russia. July 21-25, 2013. P. 18. Постер

23. Рыкова Е.Ю., Пономарева А.А., Морозкин Е.С., Лосева Е.М., Капицкая К.Ю., Брызгалов Л.Н., Морозов И.В., Курильщикова А.М., Запороженко И.А., Ажикина Т.Л., Меркулова Т.И., Чердынцева Н.В., Власов В.В., Лактионов П.П. **Циркулирующие ДНК при раке легкого: Новые подходы к поиску диагностических маркеров.** Российская научно-практическая конференция «СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ РАКА ЛЕГКОГО» 20–21 июня 2013, г. Томск, Тезисы опубликованы в СОЖ 2013 (Приложение 2):70-71. Доклад

24. Назаркина Ж.К., Харькова М.В., Антонен Д.В., Боробова Е.А., Регужева А.Ю., Бажан С.И., Карпенко Л.И., Власов В.В., Лактионов П.П., Ильичев А.А. **Кандидатная ДНК-вакцина против рака молочной железы: конструирование, получение и изучение экспрессии в эукариотических клетках.** (2013) Сибирский онкологический журнал. Приложение 1. Актуальные вопросы экспериментальной и клинической онкологии: VIII конференция молодых ученых-онкологов, посвященная памяти академика РАМН Н. В. Васильева. С. 67-68. Постер

25. Mariya Kharkova, Zhanna Nazarkina, Denis Antonets, Elena Borobova, Alyona Reguzova, Ekaterina Starostina, Pavel Laktionov, Sergey Bazhan, Larisa Karpenko, Alexandr Ilyichev, Valentin Vlassov. **Candidate breast cancer DNA vaccine: design of polyepitope antigen and evaluation of it's expression in human dendritic cells.** (2013) FEBS Journal 280 (Suppl. 1) Special Issue: 38th FEBS Congress, Saint Petersburg, Russia, July 6–11, 2013, P. 311. Постер

26. Ж.К. Назаркина, М.В. Харьковская, Д.В. Антоненко, Е.А. Боробова, А.Ю. Регужева, Е.В. Старостина, Е.С. Морозкин, С.И. Бажан, Л.И. Карпенко, В.В. Власов, А.А. Ильичев, П.П. Лактионов. **Конструирование цитотоксической ДНК-вакцины против клеток опухолей молочной железы и исследование ее экспрессии в первичных и трансформированных клетках человека** «Фундаментальные науки – медицине». Новосибирск, 16-20 сентября, 2013, С. 136. Постер
27. С.Н. Тамкович, В.А. Милейко, А.В. Стариков, В.И. Пермякова, Н.А. Кирюшина, В.Е. Войцицкий, В.В. Власов, П.П. Лактионов. **Эпигенетические ДНК-маркеры и белковые маркеры крови при раке молочной железы**. VIII конференция молодых ученых-онкологов им. академика РАМН Н.В. Васильева «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической онкологии» // Томск, Россия, 26 апреля 2013, Сибирский онкологический журнал, приложение №1, с. 88-89. Постер
28. С.Н. Тамкович, Дужак Т.Г., А.В. Стариков, В.И. Пермякова, Н.А. Кирюшина, В.Е. Войцицкий, В.В. Власов, П.П. Лактионов. **Сравнительное протеомное исследование экзосом крови здоровых женщин и больных раком молочной железы**. VIII конференция молодых ученых-онкологов им. академика РАМН Н.В. Васильева «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической онкологии» // Томск, Россия, 26 апреля 2013, Сибирский онкологический журнал, приложение №1, с. 89-90. Постер
29. S. Tamkovich, T. Duzhak, E. Ryabchikova, N. Kirushina, V. Permyakova, V. Voicitskyi, V. Vlassov, P. Laktionov. **Proteomic analysis of exosomes from blood of healthy donors and breast cancer patients**. «The First Meeting in the Frame of French-Siberian Centre of Research and Education “Nucleic Acid - Protein Interactions for Life Sciences”». // Novosibirsk, Russia, 13-15 May 2013, Abstract book, P.80. Постер
30. С.Н. Тамкович, Дужак Т.Г., Н.А. Кирюшина, В.И. Пермякова, В.Е. Войцицкий, В.В. Власов, П.П. Лактионов. **Исследование протеома нуклеопротеиновых комплексов, циркулирующих в крови здоровых женщин и больных раком молочной железы**. Конференция «Фундаментальные науки-медицине» // Новосибирск, Россия, 16-20 сентября 2013, Сборник тезисов, С 146-147. Постер
31. S.N. Tamkovich, N.A. Kirushina, V.I. Permyakova, V.E. Voicitskyi, V.V. Vlassov, P.P. Laktionov. **Characterization of circulating DNA in blood of healthy donors and breast cancer patients**. International young scientists conference "Perspectives for development of molecular and cellular biology III" // October 21-22, 2013, IMB NAS RA, Yerevan, Armenia. Доклад
32. S. Tamkovich, N. Kirushina, V. Permyakova, V. Voicitskyi, V. Vlassov, P. Laktionov. **Characterization of circulating DNA in blood of healthy donors and breast cancer patients**. CNAPS-VIII // November 7-8, 2013, CNAPS-Baltimore, USA. Постер
33. Pavel P. Laktionov. **Cell-Free and Cell-Bound Circulating Nucleic Acids: Biology and Clinical applications**. International meeting on Cell-free DNA, Copenhagen 20-21 June 2013. Доклад.

Влияние глиального нейротрофического фактора на поведение и ключевые элементы серотонергической системы мозга мышей, генетически предрасположенных к нейропатологии

Попова Н.К.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10

Глиальный нейротрофический фактор (GDNF) относится к суперсемейству соединений, трансформирующих ростовой бета-фактор и влияющих на пластичность и функционирование нейронных сетей в мозге. Исследования, проведенные сотрудниками лаборатории, установили, что: 1) Центральное введение GDNF оказывает длительно сохраняющийся положительный эффект на генетически детерминированную нейропатологию (ослабление выраженности каталепсии у «генетических –каталептиков» - мышей ASC и CBA, усиление патологически сниженного престаимульного ингибирования у мышей линии DBA/2); 2) GDNF увеличивает экспрессию ключевых генов, контролирующую активность серотонергической системы – лимитирующей синтез серотонина в мозге - триптофангидроксилазы-2, и 5-HT_{1A} и 5-HT_{2A} рецепторов; 3) имеются значительные генотип-зависимые различия в ответе серотониновой системы мозга на центральное введение GDNF.

Публикации:

1. Синякова Н.А., Кондаурова Е.М., Куликов А.В., Наumenко В.С., Тихонова М.А., Попова Н.К. Распределение мРНК гена *ilb1st* и гликопротеина *gp130* в структурах головного мозга мышей, различающихся по выраженности гипертрофированной реакции замирания (каталепсии) // Мол. Биол. 2013. 47(3):467–474.
2. Наumenко В.С., Кожемякина Р.В., Плюснина И.З., Попова Н.К. Агрессия и реакция акустического рефлекса вздрагивания у генетически предрасположенных к агрессии и неагрессивных молодых крыс // Журн. Высш. Нервн. Деят. 2013. Т.63(4):479-485.
3. Базовкина Д.В., Синякова Н.А., Куликов А.В. Участие дистального фрагмента хромосомы 13 в регуляции эффекта интерлейкина-6 на поведение мышей // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. 156(10):463-466.
4. Bazhenova EY, Kulikov AV, Tikhonova MA, Bazovkina DV, Fursenko DV, Popova NK. On the association between lipopolysaccharide induced catalepsy and serotonin metabolism in the brain of mice genetically different in the predisposition to catalepsy // Pharmacol Biochem Behav. 2013. 111: 71-75.
5. Popova NK, Naumenko VS. 5-HT_{1A} receptor as a key player in the brain 5-HT system // Rev Neurosci. 2013. 24(2):191-204.
6. Naumenko V.S., Bazovkina D.V., Morozova M.V., Popova N.K. Effects of brain-derived and glial cell line-derived neurotrophic factors on startle response and disrupted prepulse inhibition in mice of DBA/2J inbred strain // Neurosci. Lett. 2013. 550:115-118.
7. Naumenko VS, Kozhemyakina RV, Plyusnina IF, Kulikov AV, Popova NK. Serotonin 5-HT(1A) receptor in infancy-onset aggression: Comparison with genetically defined aggression in adult rats // Behav. Brain Res. 2013. 243C:97-101.
8. Amstislavskaya TG, Bulygina VV, Tikhonova MA, Maslova LN. Social isolation during peri-adolescence or adulthood: effects on sexual motivation, testosterone and corticosterone response under conditions of sexual arousal in male rats // Chin J Physiol. 56(1): 36-43
9. Naumenko V.S., Bazovkina D.V., Semenova A.A., Tsybko A.S., П'chibaeva T.V., Kondaurova E.M., Popova N.K. Effect of GDNF on behavior and key members of the brain serotonin system in genetically predisposed to behavioral disorders mouse strains // J. Neurosci. Res. 2013 (in press).
10. Kulikov AV, Tikhonova MA, Kulikova EA, Volcho KP, Khomenko TM, Salakhutdinov NF, Popova NK. Antidepressant activity of 8-(trifluoromethyl)-1,2,3,4,5-benzopentathiepin-6-amine hydrochloride (TC-2153): comparison with classical antidepressants // Lett Drug Des Discov. (in press).

Структурно-функциональные аспекты молекулярных процессов, обеспечивающих инициацию трансляции у млекопитающих

Карпова Г.Г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8

Исследован молекулярный механизм инициации трансляции геномной РНК вируса гепатита С (ВГС) рибосомами человека. С помощью химического зондирования структуры рРНК в комплексе 40S субчастиц рибосом с фрагментом вирусной РНК, соответствующим специфическому структурному элементу в ее 5'-нетранслируемой области, т.н. IRES-элементу, показано, что IRES ВГС контактирует с триплетом ССС в сегменте экспансии 7 18S рРНК. С использованием набора делеционных мутантов IRES ВГС установлено, что благодаря такому контакту происходит конформационный переход в области универсально консервативного нуклеотида рРНК 1639, делающий рибосому способной селектировать инициаторную тРНК и, таким образом, позволяющий IRES ВГС функционировать в отсутствие факторов инициации, обеспечивающих узнавание старт-кодона при канонической инициации трансляции. Центральную роль в индуцировании этого перехода играет взаимодействие домена II IRES ВГС и старт-кодона с рибосомным белком (гр) S5e, который, как оказалось, играет ключевую роль в формировании функционально компетентной структуры 48S предынициаторного комплекса. С помощью подхода, основанного на применении обратимых белок-белковых шивок под действием формальдегида и последующей идентификации сшитых белков и их пептидов масс-спектрометрией, показано, что грS5e контактирует с фактором инициации eIF2 α как в 48S комплексе, образованном с IRES ВГС, так и в 48S комплексе, собранном с использованием модельной канонической мРНК. Установлено, что контакты 40S субчастицы с фактором eIF2 α обеспечиваются N-концевыми доменами eIF2 α и грS5e, при этом один из контактирующих пептидов грS5e расположен в эукариот-специфичной N-концевой части белка. На основании анализа полученных данных сделан вывод о крупномасштабных конформационных перестройках в факторе инициации eIF2 при его связывании с малой субчастицей рибосомы, необходимых для формирования функционально компетентной структуры 48S комплекса.

Публикации:

1. Malygin A.A., Kossinova O.A., Shatsky I.N., Karpova G.G. (2013) HCV IRES interacts with the 18S rRNA to activate the 40S ribosome for subsequent steps of translation initiation. *Nucleic Acids Res.* V. 41. P. 8706-8714
2. Sharifulin D., Babaylova E., Kossinova O., Bartuli Yu., Graifer D. and Karpova G. Ribosomal protein S5e is implicated in translation initiation via its interaction with N-terminal domain of initiation factor eIF2 α . *Chembiochem.* In press. DOI:10.1002/cbic.201300318.

Репарация ДНК: от защиты генома к его регуляции

Жарков Д.О.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8

Репарация ДНК – совокупность ферментативных реакций, необходимых для удаления неканонических звеньев из ДНК. Основная и наиболее хорошо изученная функция репарации ДНК состоит в поддержке целостности генома; при этом из ДНК удаляются основания и нуклеотиды, спонтанно модифицированные при повреждении ДНК, или неповрежденные нуклеотиды, образующие неканонические пары, возникшие в результате ошибок ДНК-полимераз. В последние годы бурно развиваются исследования роли систем репарации ДНК в регуляции генов, сопровождающейся направленной модификацией оснований ДНК. В частности, показано, что ферменты репарации ДНК участвуют в активном эпигенетическом деметилировании 5-метилцитозина, в соматическом мутагенезе в гипервариабельных участках генов иммуноглобулинов и в защите эукариотических клеток от вирусов.

В ходе выполнения проекта 6.12 программы МКБ в отчетном году велись исследования механизмов репарации модифицированных оснований, возникающих в процессах клеточной регуляции: 8-оксогуанина и урацила. Показано, что метилирование динуклеотидов CpG влияет на эффективность репарации 8-оксогуанина при окислении основания G в этих мотивах, а 5-метилцитозин может удаляться 3'→5'-экзонуклеазной активностью АП-эндонуклеазы АРЕХ1 при репарации 8-оксогуанина. Исследован механизм действия мутантных форм 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы OGG1 с измененным активным центром и показано, что в мутантном фермент-субстратном комплексе активный центр достаточно пластичен для того, чтобы связать ДНК в каталитически компетентной конформации. Установлено, что процесс репарации урацила, критичном для генерации разнообразия антител и рестрикции вирусных геномов, может протекать по механизму инцизионной репарации нуклеотидов с участием фермента АРЕХ1.

Публикации:

1. Popov A.V., Vorobjev Y.N., **Zharkov D.O.** (2013) MDTRA: A molecular dynamics trajectory analyzer with a graphical user interface. *J. Comput. Chem.*, **34**, p. 319–325.
2. Sattarova E.A., Sinitsyna O.I., Vasyunina E.A., Duzhak A.B., Kolosova N.G., **Zharkov D.O.**, Nevinsky G.A. (2013) Age-dependent guanine oxidation in DNA of different brain regions of Wistar rats and prematurely aging OXYS rats. *Biochim. Biophys. Acta*, **1830**, p. 3542–3552.
3. Kasymov R.D., Grin I.R., Endutkin A.V., Smirnov S.L., Ishchenko A.A., Saparbaev M.K., **Zharkov D.O.** (2013) Excision of 8-oxoguanine from methylated CpG dinucleotides by human 8-oxoguanine DNA glycosylase. *FEBS Lett.*, **587**, p. 3129–3134.
4. Lukina M.V., Popov A.V., Koval V.V., Vorobjev Y.N., Fedorova O.S., **Zharkov D.O.** (2013) DNA damage processing by human 8-oxoguanine-DNA glycosylase mutants with the occluded active site. *J. Biol. Chem.*, **288**, p. 28936–28947
5. Prorok P., Alili D., Saint-Pierre C., Gasparutto D., **Zharkov D.O.**, Ishchenko A.A., Tudek B., Saparbaev M.K. (2013) Uracil in duplex DNA is a substrate for the nucleotide incision repair pathway in human cells. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **110**, p. E3695–E3703.
6. Graifer D., Malygin A., **Zharkov D.O.**, Karpova G. Eukaryotic ribosomal S3 protein: A constituent of translational machinery and an extraribosomal player in various cellular processes. *Biochimie*, in press.

Природные каталитические антитела в норме, аутоиммунных и вирусных заболеваниях

Невинский Г. А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8

Проведен анализ каталитически активных антител из крови больных СКВ, рассеянным склерозом (РС) и СПИДом. Известно, что абзимы против разных иммуногенных белков являются специфическими протеазами и гидролизуют только специфический белок-антиген. Впервые показано, что абзимы против интегразы ВИЧ-1 способны гидролизовать не только пептиды, соответствующие антигенным детерминантам (АГД) этого белка, но АГД основного белка миелина (ОБМ). В то же время абзимы против ОБМ из крови больных РС не способны гидролизовать пептиды, соответствующие АГД интегразы ВИЧ-1. При этом основные сайты расщепления олигопептидов в интактной ИН и в ОР не совпадают. Активный центр изучаемых абзимов-протеаз расположен на легких цепях, а тяжелая цепь ответственна за связывание белков-субстратов. Полученные данные позволяют сделать вывод, что олигопептиды взаимодействуют в основном с легкой цепью различных АТ, которые обладают пониженной эффективностью дискриминации субстратов.

Методом фагового дисплея получено 687 отдельных колоний. Девятнадцать из 33 проанализированных клонов содержали моноклональные легкие цепи (МЛЦ) с ДНКазной активностью. Они были неактивными после диализа против EDTA, но активировались в присутствии ионов Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , соотношение активностей в присутствии этих металлов было индивидуальным для каждого препарата МЛЦ. K^{+} и Na^{+} ингибировали ДНКазную активность различных МЛЦ при различных концентрациях. Полученные данные свидетельствуют о исключительном многообразии ДНК-гидролизующих абзимов в крови больных СКВ.

Кобальт является микроэлементом, который необходим для многих биологических процессах, но токсичен в высоких концентрациях. Введение мышам $CoCl_2$ не изменяло относительного содержания Ca, Cu и Zn, но значительно увеличивало содержание В (2,3 раза), Mg (в 1,5 раза), Al и Fe (в 2,1 раза), а также Si (в 3,4 раза). IgG-абзимы, мышей, обработанных $CoCl_2$, показали более низкие активности, чем у IgG, из необработанных мышей как в отсутствие, так и в присутствии ионов различных металлов

Публикации:

1. Zaksas N., Gluhcheva Y., Sedykh S., Madzharova M., Atanassova N., Nevinsky G. Effect of $CoCl_2$ treatment on major and trace elements metabolism and protein concentration in mice. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2013. V. 27(1). P. 27-30. doi: 10.1016/j.jtemb.
2. Legostaeva G.A., Zaksas N.P., Gluhcheva Y.G., Sedykh S.E., Madzharova Atanassova N.N., Buneva V.N., Nevinsky G.A. Effect of cobalt on the content of different metals and a relative activity of DNA-hydrolyzing abzymes in the blood plasma of mice. *J. Mol. Recognit.* 2013. V. 26(1). P. 10-22. doi: 10.1002/jmr.2217.
3. Odintsova E.S., Dmitrenok P.S., Buneva V.N., Nevinsky G.A. Specific anti-integrase abzymes from HIV-infected patients: a comparison of the cleavage sites of intact globular HIV integrase and two 20-mer oligopeptides corresponding to its antigenic determinants. *J. Mol. Recognit.* 2013. V. 26(3). P. 121-135. doi: 10.1002/jmr.2253.
4. Guschina T.A., Soboleva S.E., Nevinsky G.A. Recognition of specific and nonspecific DNA by human lactoferrin. *J. Mol. Recognit.* 2013. V. 26(3). P. 136-148. doi: 10.1002/jmr.2257.
5. Sattarova E.A., Sinitsyna O.I., Vasyunina E.A., Duzhak A.B., Kolosova N.G., Zharkov D.O., Nevinsky G.A. Age-dependent guanine oxidation in DNA of different brain regions of

- Wistar rats and prematurely aging OXYS rats. *Biochim. Biophys. Acta.* 2013. V. 1830(6). P. 3542-3552. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.01.027.
6. Timofeeva A.M., Dmitrenok P.S., Konenkova L.P., Buneva V.N., Nevinsky G.A. Multiple sites of the cleavage of 21- and 25-mer encephalytogenic oligopeptides corresponding to human myelin basic protein (MBP) by specific anti-MBP antibodies from patients with systemic lupus erythematosus. *PLoS One.* 2013. V. 8(3). P. e51600. doi: 10.1371/journal.pone.0051600.
 7. Botvinovskaya A.V., Kostrikina I.A., Buneva V.N., Nevinsky G.A. Systemic lupus Erithe-matosus: molecular cloning of several recombinant DNase monoclonal kappa light chains with different catalytic properties. *J. Mol. Recognit.* 2013. V. 26 (10). P. 450-460. Doi: 10.1002/jmr.2286
 8. Бунева В.Н., Красноруцкий М.А., Невинский Г.А. Природные антитела к нуклеиновым кислотам (обзор). *Биохимия.* 2013. Е. 78(2). С. 185-203. Buneva V.N., Krasnorutskii M.A., Nevinsky G.A. Natural antibodies to nucleic acids. *Biochemistry (Mosc).* 2013. V. 78(2). P. 127-143. doi: 10.1134/S0006297913020028.

Особенности организации и регуляции экспрессии гомеологичных генов, определяющих развитие пшеницы

Салина Е.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10

Проведено изучение функциональной активности генов *Vrn/vrn*, контролирующих яровой/озимый тип развития пшеницы. Проведен анализ транскрипции *VRN-B1a* и *VRN-B1c* аллелей, расположенных на хромосоме 5В мягкой пшеницы. На первом этапе с помощью RT-PCR метода определена динамика накопления продукта *VRN-B1* в изогенных линиях на стадиях 3, 4 и 5 листа. Выявлен более высокий уровень накопления *VRN-B1* транскриптов в линии с аллелем *VRN-B1c* на каждой стадии. Проведен количественный анализ транскрипции аллелей *VRN-B1* в изогенных линиях на стадии 3-го листа с использованием ПЦР в режиме реального времени. Выявлено статистически значимое десятикратное превышение уровня транскрипции аллеля *VRN-B1c* относительно *VRN-B1a*. Предполагается, что различие в уровне экспрессии *VRN-B1a* и *VRN-B1c* связано со структурными изменениями в первом интроне *VRN-B1c* (делеция и дупликация). Повышенный уровень транскрипции аллеля *VRN-B1c* возможно обусловлен нарушением связывания репрессирующего белкового комплекса в результате делеции (дупликации) в соответствии с эпигенетическим механизмом, описанным ранее для *FLC*-гена арабидопсиса.

Публикации:

1. Shcherban A. B., Khlestkina E. K., Efremova T. T., Salina E. A.. The effect of two differentially expressed wheat *VRN-B1* alleles on the heading time is associated with structural variation in the first intron. *Genetica* (2013) 141:133–141.
2. Dobrovolskaya O., P. Martinek, C. Pont, E. Badaeva, F. Murat, A. Chosson, N. Watanabe, E. Prat, N. Gautier, V. Gautier, C. Poncet, Y. Orlov, A. Krasnikov, H. Bergès, E. Salina, L. Laikova, J. Salse. FRIZZY PANICLE (FZP) drives supernumerary spikelets in bread wheat (*T. aestivum* L.). *Plant Physiology*, 2013 (submitted).
3. Sergeeva E.M., Afonnikov D.A., Koltunova M.K., Gusev V.D., Miroshnichenko L.A., Dolezel J., Poncet C., Sourdille P., Feuillet C., Salina E.A. Common wheat 5B chromosome composition by data of low-coverage 454-sequencing. *The Plant Genome*, 2013 (submitted).

Идентификация дифференциально экспрессирующихся генов в тканях вен при их варикозном расширении.

Сметанина М.А., Боярских У.А., Севостьянова К.С., Майборodin И.В., Шевела А.И., Кель А.Э., Филипенко М.Л.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8

Варикозная болезнь вен (ВБВ) является классическим мультифакториальным заболеванием, в этиологии которого важную роль играет взаимодействие внешних факторов и особенностей структуры большого количества генов. Несмотря на распространённость этого заболевания наши знания о его патофизиологических и молекулярных механизмах крайне скудны. Первичные изменения стенки вены при варикозном расширении вен включают гиперплазию интимы, гипертрофию ГМК, расширение просвета сосуда, изменение в содержании эластина и коллагена и дисбаланс матриксных металлопротеиназ (ММП) и их тканевых ингибиторов. Эти изменения вызывают общее ослабление и релаксацию стенки вены, приводя к дилатации вен, неправильной работе клапанов и рефлюксу. В последнее время появилось предположение, что функциональные и морфологические изменения эндотелия, клеток гладких мышц и внеклеточного матрикса венозной стенки могут предшествовать нарушению работы клапанов. Однако ключевые молекулы, участвующие в этих процессах неизвестны.

Для выявления генов, продукты которых могут участвовать в формировании патологического фенотипа варикозной вены, мы предприняли попытки проанализировать транскриптом составляющих их клеток. Для исследования использовали парный операционный материал образцов глубоких вен нижних конечностей с варикозным изменением и без него. Пациенты (4 мужчины и 4 женщины, средний возраст 27 лет (22-30)) имели клинический диагноз С2 по классификации CEAP (варикозное расширение вен, требующее медицинского вмешательства, но без признаков отеков или изменений кожи). Биоптированные вены использовали для последующего выделения РНК (для анализа транскриптома) и ДНК (для анализа метилома), а также фиксировали в 4% растворе параформальдегида, заключали в парафин и подвергали морфологическому анализу срезов, окрашенных гематоксилином и эозином и по Ван Гизону для верификации клинического диагноза. Анализ транскриптома проводили с помощью микрочипов HumanRef-8 v3.0 Gene Expression BeadChip (Illumina, USA), содержащих более 24,000 probes проб базы данных RefSeq.

Нами выявлено 105 генов, уровень экспрессии которых статистически значимо отличался в варикозных и здоровых венах. Идентифицированные дифференциально экспрессированные гены статистически значимо обогащены: компонентами Wnt-сигнального пути ($p=9.46E-05$; FZD4, SFRP2, WIF1, WISP2), ответа на напряжение сдвига ламинарного потока ($p=2.79E-04$; AXL, PLAT), сборки митохондриальной дыхательной цепи ($p=8.42E-05$; BCS1L, OXA1L), хемотаксиса лейкоцитов ($p=0.005$; AXL, CTGF, CX3CR1, GNAQ, TNFRSF11B).

Особый интерес может представлять ряд генов вовлеченных в процесс изменения состояния внеклеточного матрикса, в нашем списке это CHRDL2, COMP, CTGF, CYR61, MFAP5, COMP. В октябре этого года была опубликована работа (Combs et al., 2013), в

которой ассоциированному с микрофибриллами гликопротеину 2 (MAGP2), продукту гена MFAP5, отводится роль поддержания целостности сосудов. Мыши, нокаутированные по MAGP2 и MAGP1, демонстрировали значительные изменения строения крупных сосудов. Белок MAGP2 может связывать активные TGFb1, TGFb2 и BMP2. Его роль в поддержании функции вен и развитии их патологий требует дальнейшего изучения.

Другим интересным геном, экспрессия которого повышена в тканях варикозной вены, является деубиквитиназа USP19. Деубиквитиназы USP19 и USP14 имеют повышенную экспрессию в мышцах, подвергающихся атрофии. USP19, USP2 и A20 участвуют в миогенезе. Уже сейчас отдельные компоненты системы убиквитирования рассматриваются как перспективные мишени для профилактики и терапии мышечной ткани. Роль систем убиквитирования и аутофагии в патфизиологии варикозной болезни вен требует дальнейшего изучения.

Молекулярно-генетические механизмы эффектов отбора по поведению и стресс реактивности: экспериментальное исследование на моделях доместикации и крысах линий НИСАГ

Маркель А.Л.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10

Ранее на 12-ой хромосоме лисицы был идентифицирован локус (QTL), вовлекаемый в регуляцию ручного поведения. Проведено тонкое картирование и идентификация генов в регионе этого локуса с помощью технологии секвенирования второго поколения (short – read Genotyping-by-Sequencing). Были секвенированы геномы 20-и ручных и 20-и агрессивных лисиц, у которых было обнаружено 22785 однонуклеотидных полиморфизмов (SNP). Набор из 5700 SNP, каждый из которых присутствовал у каждой из 40 лисиц, был проанализирован методом главных компонент (ГК). Первая ГК (ГК1) демонстрирует генетическое расхождение между популяциями ручных и агрессивных лисиц, а вторая компонента (ГК2) выявляет генетические различия внутри выборки агрессивных лисиц. Дивергенция между ручной и агрессивной популяциями до некоторой степени может быть связана с повышенной гомозиготностью SNP в геномных регионах, вовлекаемых в отбор по поведению. Вполне вероятно, что регионами с повышенной гомозиготностью противоположенных аллелей в ручной и агрессивной популяциях, идентифицированными в ходе популяционного анализа являются, прежде всего, районы генома, на которые действует отбор по поведению. Сравнение аллельных частот в идентифицированном ранее локусе на 12-ой хромосоме выявило различия между ручной и агрессивной выборками по 6-и SNP. Эти SNP локализованы в том же регионе 12-ой хромосомы, в котором локализована первая поведенческая главная компонента (ГК-1).

Анализ транскрипционной активности генов в ткани почки стресс-чувствительных гипертензивных крыс НИСАГ и нормотензивных крыс WAG с помощью микроматриц показал, что большая часть дифференциально экспрессирующихся генов описывается термином «ответ на стресс». Это позволяет предположить, что крысы линии НИСАГ, находясь в состоянии «покоя», тем не менее, находятся в стрессированном состоянии по сравнению с нормотензивными крысами WAG. Мягкий эмоциональный стресс вызывает различные изменения в уровне экспрессии генов в корковом и мозговом компартменте почки, что говорит о различной функциональной роли этих отделов при стрессе. Экспрессия мРНК гена *Comt* в ткани почки у крыс НИСАГ снижена, что ассоциируется с усилением симпатической стимуляции органа. Об изменении регуляции водно-солевого обмена у гипертензивных крыс НИСАГ говорит значительное усиление экспрессии мРНК генов *Mr* в покое и *α -ENaC* в условиях эмоционального стресса в мозговом веществе почек крыс НИСАГ. Экспрессия мРНК генов *Egfr*, *Ephx2* повышена у крыс НИСАГ как в мозговом, так и в корковом веществе, что содействует увеличению тонуса сосудистого русла почек у крыс со стресс-зависимой гипертензией. Таким образом, развитие гипертензивного статуса у крыс НИСАГ со стресс-зависимой гипертонией связано с изменением в ткани почки активности генов, участвующих в регуляции функции симпатической нервной системы, водно-солевого баланса, а также сосудистого сопротивления.

Публикации:

1. Трут Л.Н., Гербек Ю.Э., Харламова А.В., Гулевич Р.Г., Кукекова А.В. Доместицируемые лисицы: молекулярно-генетические механизмы, вовлекаемые в отбор по поведению. Вавиловский журнал генетики и селекции 2013. 17(2): 226-233.
2. Redina O.E., Smolenskaya S.E., Maslova L.N., Markel A.L. The Genetic Control of Blood Pressure and Body Composition in Rats with Stress-Sensitive Hypertension. Clinical and Experimental Hypertension, 2013; Early Online: 1–12 Copyright © Informa Healthcare USA, Inc. ISSN 1064-1963 print/1525-6006 online DOI: 10.3109/10641963.2012.758274. и т.д.

Неканонические стартовые кодоны трансляции в мРНК дрожжей и млекопитающих

Кочетов А.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10
Новосибирский государственный университет

Найдено, что, что характеристики лидерных рамок считывания (uORF), расположенных в 5'-НТП мРНК *S. cerevisiae* и начинающихся с кодона AUG или неканонических стартовых кодонов, различны: uORF, содержащие неканонические стартовые кодоны характеризовались значительно большими размерами, что говорит в пользу функциональной значимости кодируемых ими полипептидов. Анализ структурно-функциональной организации неканонического сигнала инициации трансляции показал значимость нуклеотидного контекста, а также частое присутствие нижерасположенной стабильной вторичной структуры («компенсаторной шпильки»), усиливающей его распознавание рибосомами. Сравнительный анализ мРНК млекопитающих с оптимальным и субоптимальным вариантами контекста стартового кодона позволил выявить значительную разницу в стабильности третичной структуры РНК в начале белок-кодирующей последовательности. По-видимому, формирование структурных особенностей мРНК, определяющих эффективность распознавания «слабых» стартовых кодонов, могло в ходе эволюции осуществляться не только на уровне локальных стебле-петлевых структур, но и на более высоком уровне организации.

Публикации:

1. Kochetov A.V., Prayaga P.D., Volkova O.A., Sankararamakrishnan R. Hidden coding potential of eukaryotic genomes: non-AUG started ORFs. *J Biomol Struct Dyn*. 2013 31: 103-114.

Графодатский А.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8/2

В рамках работ по проекту продолжены работы по изучению разнообразия и эволюции млекопитающих на хромосомном и геномном уровнях. Среди наиболее многовидовой группы млекопитающих, отряда грызунов, Rodentia, методами молекулярной цитогенетики описана новая форма слепушонки, *Ellobius tancrei*, с наиболее низким числом хромосом. С помощью сортировочных проб хромосом золотистого хомячка проведен сравнительный анализ гомологичных районов хромосом трех видов рода *Allocricetulus*, определены различия между ними и место рода в общей системе Cricetidae. Впервые описана молекулярная организация хромосом вилорога, *Antilocapra americana*, определены отличия его генома от геномов видов других филогенетических ветвей жвачных и парнокопытных в целом.

Продолжены работы по изучению образцов "древней ДНК" млекопитающих из пещер Алтая. Основными объектами являются виды, одомашненные человеком в ходе развития цивилизации. Одним из видов, одомашненным раньше других, была собака, а вероятным первым примером одомашнивания - 34-тысячелетняя "собака" из Разбойничьей пещеры Алтая, череп которой был найден и описан Н.Д.Оводовым. Следует отметить, что этот экземпляр в два раза старше прочих находок древних собак, описанных другими исследователями и является, наверное, примером первой одомашнивания в истории человечества. В ходе первой работы был выделен и проанализирован 433 нуклеотидный фрагмент мтДНК от экземпляра предполагаемой собаки, во второй работе ее полный митохондриальный геном. Суммарно были проанализированы полные митохондриальные геномы еще 17 доисторических псовых из Евразии и Нового Света наряду с данными панели мтДНК по современным собакам и волкам. Установлено что митохондриальные геномы всех современных собак филогенетически наиболее тесно связаны с мтДНК древних или современных псовых Центральной Европы. Таким образом молекулярные данные предполагают как изначально европейское происхождение все современных собак примерно 18,800-32,100 лет назад, так и многократные примеры одомашнивания этого вида. Эти результаты показывают, что одомашнивание собаки является кульминацией процесса развития цивилизации европейских охотников-собирателей.

Публикации:

1. Romanenko, S.A., Lebedev, V.S., Serdukova, N.A., Feoktistova, N.Y., Surov, A.V. & Graphodatsky, A.S., "Comparative cytogenetics of hamsters of the genus *Allocricetulus*, *Argyropulo* 1932 (Cricetidae, Rodentia)", *Cytogenetic and Genome Research*, vol. 139, no. 4, pp. 258-266. (2013)
2. Druzhkova AS, Thalmann O, Trifonov VA, Leonard JA, Vorobieva NV, Ovodov ND, Graphodatsky AS, Wayne RK. Ancient DNA analysis affirms the canid from Altai as a primitive dog. *PLoS ONE* 8(3): e57754, (2013)
3. Trifonov, V. A., Dementyeva, P. V., Larkin, D. M., O'Brien, P. C. M., Perelman, P. L., Yang, F., Ferguson-Smith, M.A., Graphodatsky, A. S. Transcription of a protein-coding gene on bchromosomes of the siberian roe deer (*Capreolus pygargus*). *BMC Biology*, 11, 90 (2013)
4. Cernohorska, H., Kubickova, S., Kopecká, O., Kulemzina, A. I., Perelman, P. L., Elder, F. F. B., Graphodatsky, A., Rubes, J. Molecular cytogenetic insights to the phylogenetic affinities of the giraffe (*Giraffa camelopardalis*) and pronghorn (*Antilocapra americana*). *Chromosome Research*, , 1-14 (2013)

5. Bakloushinskaya I, Romanenko SA, Serdukova NA, Graphodatsky AS, Lyapunova EA. A new form of the mole vole *Ellobius tancrei* Blasius, 1884 (Mammalia, Rodentia) with the lowest chromosome number *CompCytogen* 7(2): 163–169 (2013)
6. Thalmann O., B. Shapiro, P. Cui, V. Schuenemann, S. Sawyer, D. Greenfield, M. Germonpré, M. Sablin, F. López-Giraldez, H. Napierala, H-P. Uerpman, D. Loponte, A. Acosta, L. Giemsch, B. Worthington, J. Buikstra, A. Druzhkova, A. Graphodatsky, N. Ovodov, N. Wahlberg, R.M. Schweizer , K-P Koepfli, J. A. Leonard, M. Meyer, J. Krause, S. Pääbo, R. E. Green and R.K. Wayne Complete mitochondrial genomes of ancient canines suggest a European origin of domestic dogs. *Science* (in press), (2013)

Эффекты стресса и глюкокортикоидов на экспрессию в головном мозге генов, ассоциированных с появлением депрессивного состояния.

Дыгало Н.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10

Стресс способен индуцировать у человека и животных появление признаков, характеризующих депрессию - поведенческую беспомощность и ангедонию. Изменение в головном мозге экспрессии генов, ассоциированных с формированием этой патологии, носит выраженный фазный и скоординированный характер. Уже в самый начальный период появления первых признаков поведенческой беспомощности (часы после стресса), экспрессия триптофангидроксилазы -2 (ТПГ2) - фермента синтеза серотонина - нейротрансмиттера ассоциированного с проявлениями и терапией психопатологии, и анти-апоптозного белка Bcl-xL, защищающего нейроны от индуцированной стрессом гибели, в дорзальном ядре шва ствола головного мозга увеличивалась. Через сутки после стресса экспрессия ТПГ2 уже не отличалась от контрольного уровня, а экспрессия Bcl-xL продолжала увеличиваться и была выше как по сравнению с контролем, так и с животными через 2 часа после стресса. Через 2 недели ежедневного стресса экспрессия Bcl-xL возвращалась к значениям нестрессированных животных, а экспрессия ТПГ2 снижалась ниже уровня контроля. Параллельно с изменениями экспрессии белка Bcl-xL и ТПГ2, уже через 2 часа после стресса значительно увеличивалась экспрессия глюкокортикоидных рецепторов (GR) во фронтальной коре. Хотя это увеличение экспрессии GR и не зависело от содержания глюкокортикоидов в крови, повышение степени изменения их уровня предварительной обработкой блокатором синтеза этих гормонов

метирапоном потенцировало индукцию экспрессии GR в префронтальной коре синтетическим глюкокортикоидом дексаметазоном. В целом, характер изменений экспрессии ТПГ2, Bcl-xL и GR в ходе стрессорного воздействия и под влиянием глюкокортикоидов отражает как активацию механизмов, защищающих индивида от психопатологических эффектов стресса, так и последствия негативных эффектов стресса на мозг, сочетание которых и определяет развитие депрессивно-подобного состояния.

Рекомбинантные аффинные белки на основе домена FNIII-типа для терапии онкологических и инфекционных заболеваний

А.М.Наякшин, Н.А.Чикаев, А.В.Таранин

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8/2

Сконструирована комбинаторная библиотека фрагментов ДНК, кодирующих 10Fn3-домен фибронектина человека с разнообразием около 10^{13} вариантов. 10Fn3 домен обладает сходной с IgV трехмерной структурой. Его разнообразие в созданной библиотеке определяется двумя искусственными гипервариабельными петлями, аналогичными гипервариабельным петлям IgV. Библиотека будет использована как источник белковых агентов, аналогов антител, способных высокоаффинно связывать представляющие медицинский интерес молекулы человека. Отсутствие дисульфидных связей и сайтов гликозилирования позволит проводить синтез селективированных в качестве антител 10Fn3 доменов в бактериальных экспрессирующих системах, а низкая иммуногенность позволит использовать эти белки для «in vivo» терапии и молекулярного зондирования человека.

Публикации:

1. Kulemzin S, Chikaev N, Volkova O, Reshetnikova E, Taranin A, Najakshin A, Mechetina L. Characterization of human FCRLA isoforms. Immunol Lett. 2013 May;152(2):153-8

Новые активности в репарации апуринowych/апириимидиновых сайтов

О.И. Лаврик

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8

Апуриновые/апириимидиновые сайты (AP-сайты) - один из наиболее многочисленных типов повреждения ДНК, возникающих спонтанно либо в процессе эксцизионной репарации оснований (BER). Они также могут возникать под действием ионизирующего излучения и входить в состав кластеров. AP-сайты в составе нуклеосом образуют значительное количество сшивок ДНК-белок и генерируют двухцепочечные разрывы – наиболее опасную форму повреждений ДНК. Репарация AP-сайтов – одна из центральных задач в сохранении целостности структуры ДНК. Апуриновая/апириимидиновая эндонуклеаза 1 (APE1) – основной фермент иницирующий расщепление AP-сайтов и их последующую репарацию. Мы установили, что другие репаративные белки (PARP1, HMGBl, Ku-антиген, YB-1) могут взаимодействовать с AP-сайтами и регулировать их процессинг. Эти белки обладают способностью расщеплять AP-сайты. Недавно мы обнаружили новую ферментативную активность тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы 1 (Tdp1). Исходная функция этого фермента заключается в гидролизе фосфодиэфирной связи между 3'-фосфатом и различными заместителями, присоединенными к этой группе. Однако Tdp1 способна катализировать реакцию расщепления AP-сайтов, расположенных в середине цепи. Это приводит к формированию разрыва с 3'- и 5'-фосфатными группами на конце. Удаление 3'-фосфата осуществляется 5'-полинуклеотидкиназой-3'-фосфатазой (PNKP). PNKP и Pol β играют ключевую роль в этом пути BER и активность обоих ферментов и активность обоих ферментов стимулируется XRCC1 и PARP1. Полученные данные предполагают роль Tdp1 в новом APE1-независимом пути BER у млекопитающих. Tdp1 более активна в расщеплении AP-сайтов, расположенных в одноцепочечной ДНК, или ДНК, содержащей неспаренные участки. AP-сайты, расположенные напротив громоздких повреждений, гидролизуются быстрее, чем AP-сайты, находящиеся в двухцепочечной ДНК. Эта новая активность Tdp1 может вносить вклад в репарацию AP-сайтов, в особенности в ДНК, содержащих одноцепочечные участки или AP-сайтов в составе кластерных повреждений. Будут обсуждены механизмы репарации кластерных повреждений, содержащих AP-сайты.

Публикации:

1. Belousova E.A., Vasil'eva I.A., Moor N.A., Zatsepin T.S., Oretskaya T.S., Lavrik O.I. Clustered DNA lesions containing 5-formyluracil and AP site: repair via the BER system. PLoS One, 2013, 8, e68576.
2. Krasikova Y.S., Rechkunova N.I., Maltseva E.A., Pestryakov P.E., Petrusheva I.O., Sugawara K., Chen X., Min J.H., Lavrik O.I. Comparative analysis of interaction of human and yeast DNA damage recognition complexes with damaged DNA in nucleotide excision repair. J. Biol. Chem., 2013, 288, 10936-10947.
3. Kutuzov M.M., Khodyreva S.N., Amé J.C., Ilina E.S., Sukhanova M.V., Schreiber V., Lavrik O.I. Interaction of PARP-2 with DNA structures mimicking DNA repair intermediates and consequences on activity of base excision repair proteins. Biochimie, 2013, 95, 1208-1215.
4. Evdokimov A., Petrusheva I., Tsidulko A., Koroleva L., Serpokrylova I., Silnikov V., Lavrik O. New synthetic substrates of mammalian nucleotide excision repair system. Nucleic Acids Res., 2013, 41, e123.

5. Krasikova Y.S., Rechkunova N.I., Maltseva E.A., Anarbaev R.O., Pestryakov P.E., Sugawara K., Min J.-H., Lavrik O.I. Human and yeast DNA damage recognition complexes bind with high affinity DNA structures mimicking in size transcription bubble // *J. Mol. Recognit.*, 2013, DOI: 10.1002/jmr.2308.
6. Скосарева Л.В., Лебедева Н.А., Лаврик О.И., Речкунова Н.И. Репарация объемных повреждений ДНК – производных полициклических ароматических углеводов // *Молекуляр. биология*, 2013, 47, 731-742.

Принятые в печать статьи

1. Kosova A.A., Khodyreva S.N., Lavrik O.I. Ku80 interaction with apurinic/apyrimidinic sites depends on the structure of DNA ends, *Biopolymers and cell*, 2013.
2. Lebedeva N.A., Rechkunova N.I., Ishchenko A.A, Saparbaev M., Lavrik O.I. The mechanism of human tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 in the cleavage of AP site and its synthetic analogs // *DNA Repair*, 2013.
3. Лебедева Н.А., Речкунова Н.И., Лаврик О.И. Репарация апуриновых/апиримидиновых сайтов в одноцепочечных участках ДНК, инициируемая тирозил-ДНК-фосфодиэстеразой 1 // *Доклады АН*, 2013.

Генетический полиморфизм ферментов системы свертывания крови у тундровых ненцев и русских Сибири в связи с проблемой тромбозозависимых заболеваний

Р.П. Тийс^{1*}, Л.П. Осипова¹, Л.Э. Табиханова¹, Е.Н. Воронина², М.Л. Филипенко²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8

Гены факторов системы свертывания крови FII и FV относятся к генам, функциональный полиморфизм которых (*G20210A* и *G1691A* соответственно) ассоциирован с риском развития тромбозов и связанных с ними таких заболеваний, как легочная тромбоэмболия, инфаркт миокарда, инсульт, осложнения при беременности и др.

Для проведения исследования были сформированы популяционные выборки ДНК от представителей коренных самодийских этносов Севера - тундровых и лесных ненцев (258 и 208 человек соответственно). В качестве группы сравнения исследовалась выборка этнических русских (301 человек), проживающих на той же территории – в Ямало-Ненецком автономном округе. Генотипирование однонуклеотидных замен в генах факторов свертывания крови FII (*G20210A*) и FV (*G1691A*, мутация Leiden), проводили методом real-time PCR с использованием конкурирующих TaqMan-зондов.

Частоты встречаемости полиморфных вариантов *20210A* и *1691A*, наличие которых может повышать риск развития тромбозов и связанных с ними заболеваний, среди русских ЯНАО сравнимы с таковыми в популяциях других европеоидов и очень низки в популяциях лесных и тундровых ненцев. Более информативным маркером является мутация Leiden (*G1691A*) гена FV. Её частота среди сибирских русских статистически значимо выше, чем частоты у тундровых и лесных ненцев. Можно предположить, что это является одним из механизмов адаптации коренных жителей Севера к экстремальным условиям высоких широт.

Происхождение и специфичная экспрессия дублицированных генов *F3h* у злаков трибы *Triticeae*

Хлесткина Е.К., Шоева О.Ю.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10

Дубликация гена, предшествующая возникновению гена с новой функцией, считается одной из основных направляющих сил эволюции. Цель настоящего проекта состоит в выявлении особенностей эволюции дублицированных копий генов в аллополиплоидных и чужеродно-замещенных геномах злаков. В качестве модельной системы используются гены широко разветвленной сети биосинтеза флавоноидных соединений растений, выполняющих различные биологические функции.

На данном этапе работы проводилась идентификация, выделение и сравнительный анализ структурно-функциональной организации дублицированного гена *F3h* у представителей трибы *Triticeae*. Данный ген кодирует один из ключевых ферментов биосинтеза флавоноидных соединений – флаванон-3-гидроксилазу.

У большинства видов растений ген, кодирующий флаванон-3-гидроксилазу, присутствует в виде единичной копии. Однако в ходе данной работы нам удалось выявить дубликацию этого гена в геноме некоторых злаков трибы *Triticeae*. А именно, в геноме R ржи посевной, в геномах В и G различных полиплоидных видов пшеницы и у предка геномов В и G *Aegilops speltoides* Tausch. (геном S). Кластерный анализ дублицированных генов в этих геномах и генов *F3h* в других геномах злаков, а также скрининг 95 образцов 24 видов трибы *Triticeae* позволил заключить, что паралог гена *F3h* появился у общего предка трибы *Triticeae*, а затем у большинства видов подвергся псевдогенизации, сохранившись лишь в геномах В, G, S и R.

Установлено, что у растений, имеющих один из данных геномов, дублицированный ген *F3h* специфически транскрибируется в корнях и неактивен в перикарпе зерновки, стебле, coleoptиле и листе, где экспрессируется основной ген *F3h*, который, наоборот, неактивен в корнях. Дубликация мало отличается от исходной последовательности в кодирующей части гена, и, согласно анализу предсказанных аминокислотных последовательностей, кодирует функциональный фермент F3H. Гораздо более существенные отличия выявлены в структуре промотора двух генов *F3h*. Возможно, именно тканевая специализация и позволила паралогичной копии гена *F3h* сохраниться в геномах В, G, R и S, тогда как у многих других видов *Triticeae* дублицированный ген подвергся псевдогенизации.

Публикации:

1. Khlestkina E.K., O.V. Dobrovolskaya, I.N. Leonova, E.A. Salina (2013) Diversification of the duplicated *F3h* genes in *Triticeae*. *J Mol Evol.* 76:261-266. DOI: 10.1007/s00239-013-9554-3
2. Шоева О.Ю., Хлесткина Е.К. (2013). Специфичная экспрессия гомеологичных и паралогичной копий гена *F3h* в различных органах пшеницы *Triticum aestivum* L. *Молекулярная Биология.* 47 (6): in press. DOI: 10.7868/S0026898413060141

Молекулярные и клеточные изменения в мозге самцов мышей с повторным опытом агрессии: эффекты депривации

Кудрявцева Н.Н.¹, Смагин Д.А.^{1,2}, Боярских У.А.³, Бондарь Н.П.¹, Филипенко М.Л.³, Ениколопов Г.Н.^{2,4}

¹ФБГУН Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск;

²ФНБИК, Московский физико-технический институт, Москва;

³ФБГУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины, Новосибирск; ⁴Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY

Было показано, что у самцов мышей с длительным опытом агрессии, сопровождаемой победами, развивается психопатология агрессивного поведения, которая сопровождается неконтролируемой агрессией, враждебностью и выраженной тревожностью, нарушениями в социальном распознавании и мотивационном поведении, развитием гиперактивности и появлением стереотипий и др.. При этом агрессивные самцы демонстрируют повышенный уровень агрессии после периода без конфронтаций (период депривации) по сравнению с до-депривационным уровнем. В субгранулярной зоне зубчатой извилины гиппокампа таких мышей было установлено увеличение BrdU-меченых клеток, что свидетельствует об усилении нейрогенеза в этой области мозга. В то же время, нейрональная активность в базолатеральной области миндалины, оцениваемая по числу *c-fos*-меченых клеток, снижается. В вентральной тегментальной области агрессивных самцов экспрессия дофаминергических генов *Th*, *Dat1* и *Sncα*, оцениваемая по количеству мРНК, повышается. После периода депривации экспрессия генов *Th* и *Dat1* остается на прежнем уровне, в то время как экспрессия гена *Sncα* возвращается к контрольному уровню. В ядрах шва среднего мозга самцов мышей с повторным опытом агрессии уровни мРНК серотонергических генов *Tph2*, *Sert*, *Maoa*, и *Htr1a* снижаются. После депривации экспрессия генов *Tph2* и *Sert* восстанавливается, в то время как экспрессия генов *Maoa* и *Htr1a* значительно повышается относительно контрольного уровня. Полученные данные поддерживают представления о том, что повторный опыт агрессии ведет к развитию дисбаланса между активностью серотонергической и дофаминергической систем, а именно, происходит активация дофаминергической и снижение серотонергической активности в отделах мозга. Предполагается, что дофаминергические и опиоидергические системы мозга являются ответственными за пост-депривационное усиление агрессивности самцов мышей.

Публикации:

1. Smagin D.A., Boyarskikh U.A., Bondar N.P., Filipenko M.L., Kudryavtseva N.N. Reduction of serotonergic gene expression in the midbrain raphe nuclei under positive fighting experience. *Advances in Bioscience and Biotechnology; Special Issue on Gene Expression*. 2013, 4, 10B, 36-44. doi: 10.4236/abb.2013.410A3005.
2. Kudryavtseva N.N., Smagin D.A., Boyarskikh U.A., Bondar N.P., Filipenko M.L., Enikolopov G.N. Molecular and cellular implications of repeated aggression: Effect of fighting deprivation. *Материалы 45th European Brain and Behaviour Society Meeting, Munich, Germany, 6-9 September. 2013, P125.*

3. Кудрявцева Н.Н., Смагин Д.А., Боярских У.А., Бондарь Н.П., Филипенко М.Л., Ениколопов Г.Н. Молекулярные и клеточные изменения в мозге самцов мышей с повторным опытом агрессии: эффекты депривации. Материалы отчетной конференции по программе Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» 2013
4. Шурлыгина А.В., Галямина А.Г., Мельникова Е.В., Пантелеева Н.Г., Тендитник М.В., Труфакин В.А., Кудрявцева Н.Н. Влияние ронколейкина на иммунную недостаточность и тревожно-депрессивное состояние, вызванных хроническим социальным стрессом у самцов мышей. Росс. физиол. журн., 2013, послано в печать

Структурный и кинетический анализ механизмов репарации ДНК

Федорова О.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10

ДНК-гликозилаза человека hOGG1 участвует в удалении окислительных повреждений из ДНК по механизму эксцизионной репарации оснований. Одним из основных продуктов окислительной модификации пуриновых оснований является 7,8-дигидро-8-оксогуанин (8-оксогуанин, 8-охоG). Фермент hOGG1 обладает уникальной способностью отличать остаток 8-охоG от четырех нормальных гетероциклических оснований и эффективно его удалять. Фермент hOGG1 является бифункциональной ДНК-гликозилазой/ β -лиазой и способен расщеплять N-гликозидную связь поврежденного основания с образованием свободного 8-охоG, а затем катализировать разрыв 3'- фосфодиэфирной связи. Структурные исследования hOGG1 свидетельствуют о значительных перестройках конформации фермента при формировании комплексов с ДНК-субстратами и интермедиатами каталитической реакции. Для выяснения механизма узнавания ферментом hOGG1 окислительных повреждений в ДНК нами изучено влияние замен отдельных аминокислот, формирующих активный центр, на конформационную динамику hOGG1 и ДНК-субстратов, содержащих 8-охоG и апуриновый/апиримидиновый сайты (AP). Регистрация структурных изменений проводилась по изменению интенсивности флуоресценции остатков Trp в молекуле hOGG1 и различных флуоресцирующих аналогов нуклеотидов, помещаемых рядом или напротив поврежденного нуклеотида, в ДНК-субстратах. Конформационная динамика hOGG1 и его мутантных форм Y203W, Y203A, H270W, F45W, F319W и K249Q изучалась кинетическим методом «остановленного потока» в интервале времени 1,5 мс – 1000 с.

Полученные данные позволили установить роль отдельных аминокислотных остатков hOGG1 в протекании каталитического цикла. Обнаружено, что аминокислота Trp-203 важна не только для формирования изгиба ДНК спирали в составе фермент-субстратного комплекса, но и участвует в первичных стадиях узнавания повреждения; Asp-268 участвует в гидролизе N-гликозидной связи; Lys-249 необходим как для протекания реакции β -элиминирования, так для осуществления более ранних стадий взаимодействия и выворачивания из цепи поврежденного основания, а His-270 участвует в закреплении вывернутого из спирали положения 8-охоG.

Показано, что специфичность hOGG1 обеспечивается за счет многостадийного узнавания поврежденных сайтов, сопровождаемого перестройками конформаций как самого фермента, так и ДНК-субстратов.

Публикации:

1. Kuznetsova A. A., Kuznetsov N. A., Ishchenko A. A., Sapparbaev M. K. and Fedorova O. S. Step-by-step mechanism of DNA damage recognition by human 8-oxoguanine DNA glycosylase. *Biochim.Biophys. Acta*, published online 03.10.2013, DOI: 10.1016/j.bbagen.2013.09.035.
2. Lukina M. V., Popov A. V., Koval V. V., Vorobjev Y. N., , Fedorova O. S., Zharkov D. O DNA damage processing by human 8-oxoguanine-DNA glycosylase mutants with the occluded active site. *J.Biol.Chem.*, 2013. V. 288. No 40. P. 28936-28947; DOI: 10.1074/jbc.M113.487322.
3. Popov A.V., Vorobjev Y.N., Zharkov D.O. MDTRA: A molecular dynamics trajectory analyzer with a graphical user interface. *J. Comput. Chem.* 2013. V. 34(4), P 319-325. DOI: 10.1002/jcc.23135.

4. Kuznetsova A. A., Kuznetsov N. A., Vorobjev Y. N., Barthes N. P. F., Michel B. Y., Burger A., Fedorova O. S. New environment-sensitive multichannel DNA fluorescent label for investigation of the protein-DNA interactions applying to *Escherichia coli* Endonuclease VIII. ChemBioChem. Submitted.
5. Kuznetsov N. A., Kuznetsova A. A., Vorobjev Y. N., Krasnoperov L. N., Fedorova O. S. Thermodynamics of the DNA Damage Repair Steps of Human 8-Oxoguanine DNA Glycosylase. Biochemistry, submitted.

Тезисы

1. Koval V.V., Lomzov A.A., Kanazhevskaya L.Y., Timofeyeva N.A., Pyshnyi D.V., Fedorova O.S. Human AP endonuclease 1 active site plasticity: MD simulation of WT and mutant enzyme-substrate complexes. 38-th FEBS Congress. Санкт-Петербург. 06-11.07.2013. P. 160.
2. Dyakonova E.S., Koval V.V., Fedorova O.S. Kinetic features of AP-site cleavage by Apn1 from *Saccharomyces cerevisiae* and its H83A mutant in base excision repair. 38-th FEBS Congress. Санкт-Петербург. 06-11.07.2013. P. 64.
3. Kanazhevskaya L.Y., Koval V.V., Fedorova O.S. Stopped-flow kinetic analysis of the role of Asn212 in the catalytic mechanism of human AP endonuclease 1. 38-th FEBS Congress. Санкт-Петербург. 06-11.07.2013. P. 67.
4. Lukina M.V., Koval V.V., Zharkov D.O., Fedorova O.S. Human 8-oxoguanine DNA glycosylase C253I and C253L mutant forms in the DNA repair process. 38-th FEBS Congress. Санкт-Петербург. 06-11.07.2013. P. 67-68.
5. Timofeyeva N.A., Koval V.V., Ishchenko A.A., Saparbaev M.K., Fedorova O.S. The kinetic study of human apurinic/ apyrimidinic endonuclease 1 in nucleotide incision repair pathway. 38-th FEBS Congress. Санкт-Петербург. 06-11.07.2013. P. 71.
6. Kuznetsov N.A., Kuznetsova A.A., Ishchenko A.A., Saparbaev M.K., Fedorova O.S. Recognition of DNA damages by human 8-oxoguanine DNA glycosylase. 38-th FEBS Congress. Санкт-Петербург. 06-11.07.2013. P. 151-152.
7. Fedorova O.S. Conformational dynamics of DNA repair enzymes revealed by fluorescence stopped-flow analysis. 38-th FEBS Congress. Санкт-Петербург. 06-11.07.2013. P. 151.
8. Kuznetsov N.A., Milov A.D., Isaev N.P., Vorobjev Y.N., Dzuba S.A., Tsvetkov Y.D., Fedorova O.S., Knorre D.G. ESR-PELDOR studies of structural transitions of DNA induced by DNA repair enzyme. 38-th FEBS Congress. Санкт-Петербург. 06-11.07.2013. P. 155.
9. Timofeyeva N.A., Koval V.V., Ishchenko A.A., Saparbaev M.K., Fedorova O.S. The kinetic study of human apurinic/ apyrimidinic endonuclease 1 in nucleotide incision repair pathway. 38-th FEBS Congress. Санкт-Петербург. 06-11.07.2013. P. 160.
10. Kuznetsova A.A., Kuznetsov N.A., Morozova E.A., Anufrieva N.V., Demidkina T.V., Fedorova O.S. Pre-steady-state kinetics of substrate recognition and processing by *Citrobacter freundii* methionine gamma-lyase. 38-th FEBS Congress. Санкт-Петербург. 06-11.07.2013. P. 176.

Анализ экспрессии мутаций в митохондриальном геноме больных с нейродегенеративными заболеваниями

Стариковская Е.Б., Дрёмов С.В., Шалаурова С.А., Сукерник Р.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10

В течение 2013 года мы расширили имеющуюся базу данных за счёт поступления новых случаев наследственной оптической нейропатии Лебера (LHON) и других нейродегенеративных заболеваний. Выполнен молекулярный анализ мтДНК-проб (на уровне полногеномного секвенирования), полученных из крови 23 больных, в том числе их близких родственников по женской линии, жителей Новосибирска, Новосибирской, Омской и Томской областей, Алтайского края и Казахстана. В итоге, детально изучена эпидемиология LHON и (LHON-like) подобных заболеваний в России и Казахстане. Инициирована работа по высокоточному измерению уровня гетероплазмии в крови у пациентов, обнаруживающих материнское наследование заболевания, при помощи цифровой ПЦР, с конечно целью диагностики данной категории заболеваний.