

ПРИОРИТЕТНОЕ НАПРАВЛЕНИЕ VI.53. ЭВОЛЮЦИОННАЯ, ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ, СИСТЕМЫ ЖИЗНЕОБЕСПЕЧЕНИЯ И ЗАЩИТЫ ЧЕЛОВЕКА

Программа VI.53.1. Создание моделей патологических состояний человека: исследование генетико-физиологических, молекулярно-генетических и биофизических механизмов (координатор докт. биол. наук А. Л. Маркель)

Сотрудниками Института цитологии и генетики проведены исследования генетической предрасположенности к развитию болезни Альцгеймера методом полногеномного анализа сцепления генетических локусов с белками — маркерами болезни Альцгеймера. Показано, что в мозге концентрация белка β -амилоида (A β 40), одного из белков-маркеров, контроли-

руется двумя генетическими локусами. Один из них расположен в хромосоме 1, другой — в хромосоме 11. Мутации в районе первого локуса ассоциированы с развитием болезни Альцгеймера в раннем возрасте. Второй локус находится в районе, ассоциированном с депрессией, аутизмом и поздними формами болезни Альцгеймера.

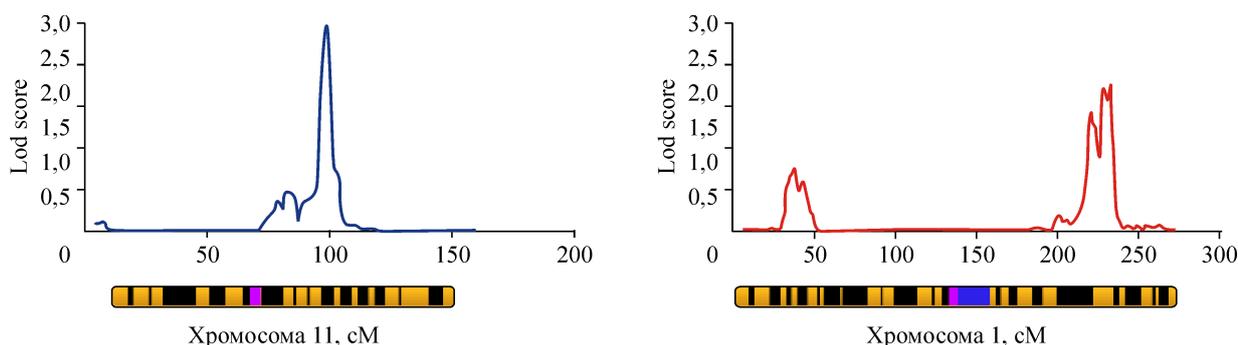


Рис. 39. Показатель вероятности сцепления (Lod score) концентрации белка β -амилоида (A β 40) в плазме крови с геномными локусами, расположенными на 1-й и 11-й хромосомах человека. Расстояния на генетической карте (ось X) представлены в сантиморганах (сМ). Внизу приведены идиограммы хромосом 11 и 1.

Программа VI.53.2. Фундаментальные основы генетических и клеточных технологий для регенеративной медицины (координатор докт. мед. наук А. И. Шевела)

В Институте химической биологии и фундаментальной медицины с целью разработки эффективных методов репарации дефектов костной ткани исследовано заживление искусственно созданных дефектов челюсти крыс при введении в дефект мезенхимальных стволовых клеток (СК) и различных поддерживающих сред. Показано, что максимально быстрое заживление участка повреждения костной ткани происходит после применения фибринового сгустка с СК. СК, расположенные в фибрине,

начинают образование кости не только с краев дефекта, но также и с его середины. Отверстие раньше и интенсивнее заполняется островками молодой костной ткани, которые быстрее сливаются (рис. 40, а, б). Менее эффективным оказалось применение суспензии СК в культуральной среде, а также суспензии СК в комбинации с полимерным матриксом на основе полигидроксиалканоата.

Учеными этого же Института методом микродиссекции хромосом, флуоресцентно ме-

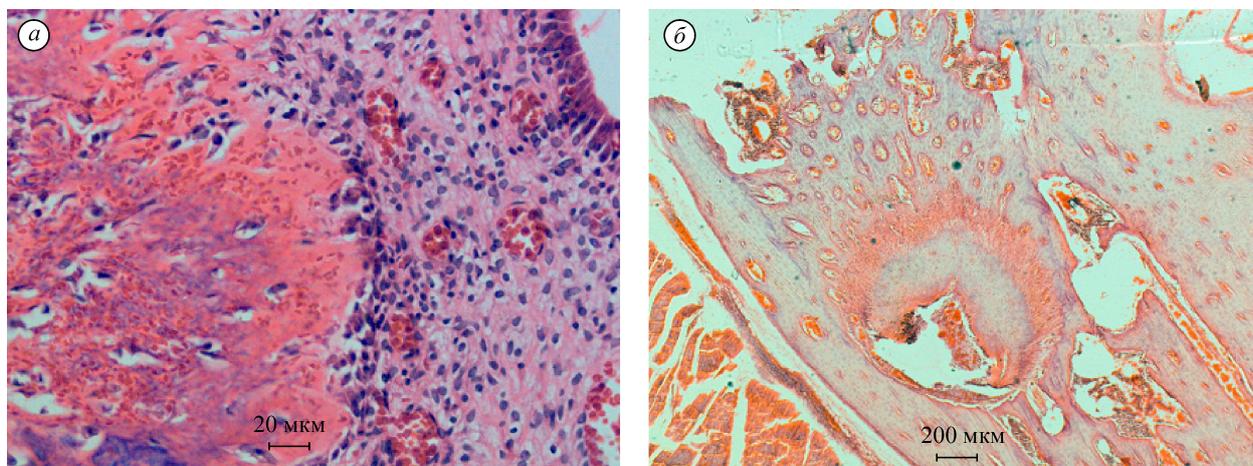


Рис. 40. Дефект кости нижней челюсти крыс через одну неделю после операции (окраска гематоксилином и эозином): *а* — по краю дефекта при спонтанном заживлении расположены грануляции, сам дефект заполнен кровяным сгустком, где начинается формирование островков костной ткани; *б* — значительное уменьшение размеров отверстия в кости после введения в дефект фибринового сгустка со стволовыми клетками, формирование костной ткани в дефекте.

ченных зондами, приготовленными из внеклеточной ДНК, получен микродиссекционный материал области девятой хромосомы 9q12, являющейся основным источником внеклеточной ДНК. Связанные с этой областью ДНК-пробы клонированы и секвенированы. 20 % секвенированных последовательностей содержат фрагменты консенсуса сателлитной ДНК

III (GGAAT), локализованных в районе 9q12 (рис. 41). Эта ДНК участвует в развитии антистрессового ответа, транскрипционно активна, а транскрибируемая сателлит III РНК необходима для формирования ядерных стрессовых телец.

В этом же Институте для выяснения механизма инактивации вируса искусственными

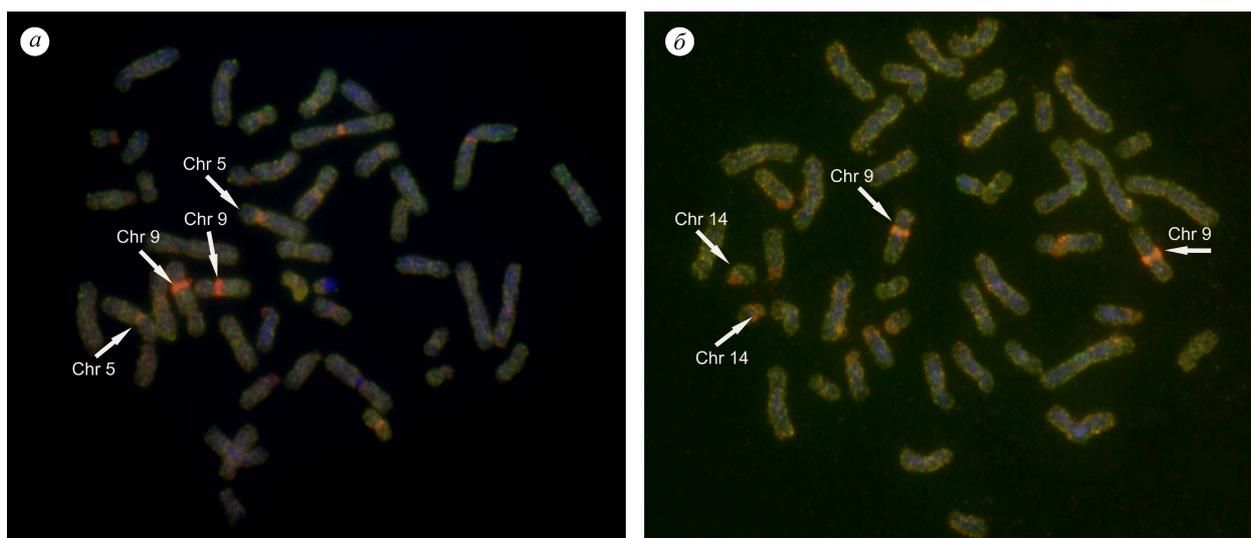


Рис. 41. Выявление на хромосомах человека областей — основных источников внеклеточных нуклеиновых кислот.

а — двухцветная FISH ДНК-зондов, полученных из геномной ДНК клеток HeLa (зеленый канал) и внеклеточной ДНК, связанной с внешней поверхностью клеток HeLa (красный канал) на метафазных хромосомах лейкоцитов; *б* — двухцветная FISH ДНК-зондов, полученных из апоптической ДНК первичных фибробластов (зеленый канал) и внеклеточной ДНК, выделенной из культуральной среды первичных фибробластов (красный канал) на метафазных хромосомах лейкоцитов. Стрелками обозначены участки хромосом, гиперпредставленные во внеклеточной ДНК. Район 9 хромосомы 9q12 максимально представлен в свободных и связанных с поверхностью клеток внеклеточных ДНК.

РНКазами проведен анализ содержания полно-размерных вирусных РНК в препаратах РНК, выделенных из вируса гриппа, инактивированного синтетической РНКазой ABL3C3. Показано, что искусственная РНКаза ABL3C3 разрушает практически все гены вирусной РНК. В первую очередь происходит расщепление вирусных РНК, кодирующих белки полимеразного комплекса (рис. 42). Разработанный метод инактивации вирусов под действием искусственных РНКаз может быть использован для создания вакцин против широкого спектра РНК-содержащих вирусов.

Сотрудники этого же Института проанализировали последовательности гена *BRCA1*, мутации которого приводят к раку молочной железы (РМЖ), у 430 женщин с семейной формой РМЖ, проживающих в Западно-Сибирском регионе, и выделили шесть наиболее часто встречающихся мутаций. Разработан быстрый и дешевый метод выявления данных мутаций (5382insC, 4153delA, 3819del5, 300T> G, 3875del4, 185delAG), адаптированный для применения в клиничко-диагностических лабораториях отечественных медицинских учреждений (рис. 43).

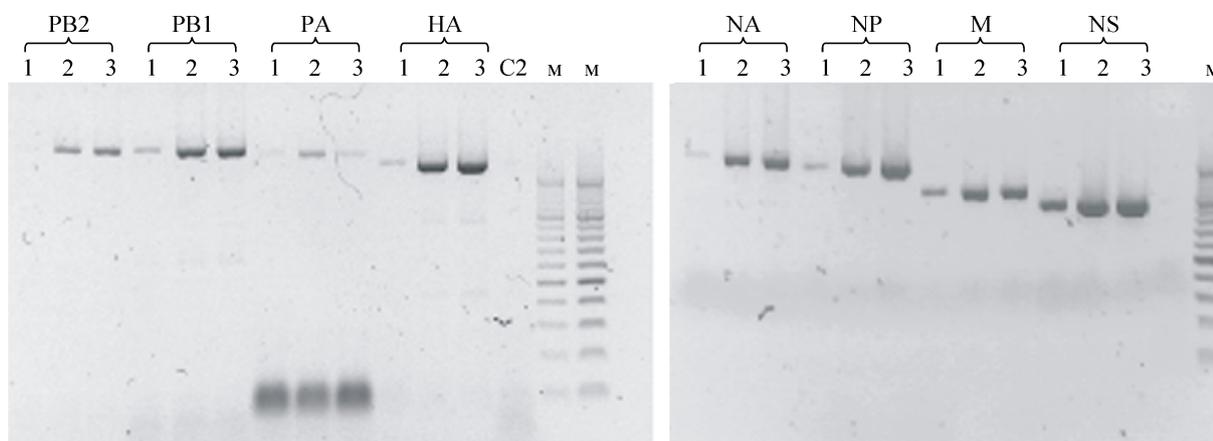


Рис. 42. Кинетика деградации геномных РНК вируса гриппа под действием искусственной РНКазы ABL3C3. Данные ОТ ПЦР-анализа: PB2, PB1, PA, HA, NA, NP, M, NS — гены вируса гриппа; 1 — вирус, инактивированный ABL3C3 (1 mM); 2 — вирус, инактивированный ABL3C3 (0,5 mM); 3 — нативный вирус.

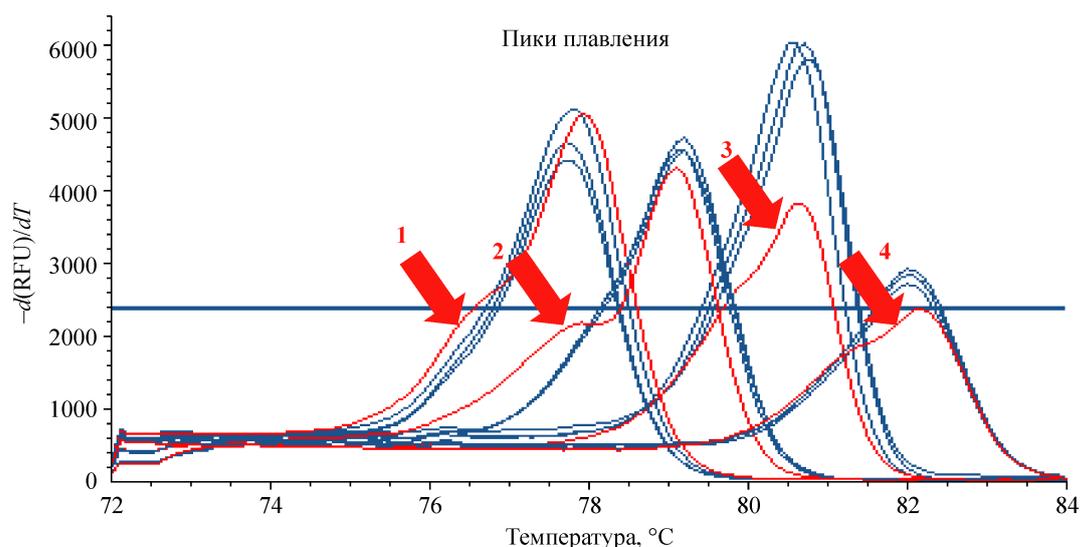


Рис. 43. Быстрая технология скрининга наиболее распространенных мутаций гена *BRCA1*, вызывающих развитие рака молочной железы. Кривые отражают изменение флуоресценции при термальном анализе продуктов ПЦР для выявления четырех мутаций гена *BRCA1* у четырех человек, несущих разные мутации: красный цвет — кривые плавления с мутацией (кривая и тип мутации указаны стрелкой), мутации: 1 — 300 T> G; 2 — 185 del AG; 3 — 4153 del A; 4 — 5382 ins C.