

ЮБИЛЕЙНАЯ 25-АЯ ПУЩИНСКАЯ
ШКОЛА-КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ
СБОРНИК ТЕЗИСОВ

25
БИОЛОГИЯ
НАУКА XXI ВЕКА



УДК 576:577:579:574
ББК 28.7 + 28.4
С23

С23 Сборник тезисов 25-ой Пушкинской школы-конференции молодых ученых с международным участием «БИОЛОГИЯ – НАУКА XXI ВЕКА».
Пушино: ФИЦ ПНЦБИ РАН, 2022. – 379 с.

ISBN 978-5-91874-907-4

С 18 по 22 апреля в г. Пушкино проходила юбилейная 25-ая Пушкинская школа-конференция молодых ученых с международным участием «Биология – наука XXI века». На конференции были рассмотрены новейшие достижения и результаты исследований молодых ученых, специализирующихся в различных областях биологической науки. Были проведены мастер-классы и пленарные лекции ведущих ученых. В сборнике представлены тезисы 370 докладов участников конференции по следующим направлениям:

- микробиология и вирусология;
- биофизика и биоинформатика;
- молекулярная биология;
- биохимия;
- экология;
- почвоведение;
- биофармацевтика;
- биотехнология;
- физиология животных и фундаментальная биомедицина;
- физиология растений и фотобиология.

Публикуется в авторской редакции

УДК 576:577:579:574
ББК 28.7 + 28.4

Сборник издан при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках проекта Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (Соглашение № 075-15-2021-1051).

ISBN 978-5-91874-907-4

© Коллектив авторов
© Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», 2022



создания экспрессионного вектора служила плаزمида *ret32*, несущая селективный ген ампициллин (Amp). Для аффинной очистки целевой белок на N-конце содержит 6His. Полученными векторами трансформировали *E. coli* штамма BL 21 DE3/Rosetta, особенностью которого является наличие плазмиды, кодирующей шесть тРНК, соответствующих редким для *E. coli* кодонам. Чтобы белок не накапливался в тельцах включения индукцию синтеза белка проводили при пониженной температуре (20 °C) в течение 20 часов. Нами были найдены оптимальные условия разрушения клеток и подобрана последовательность хроматографических очисток. Скрининг фракций, содержащих целевые белки проводили с помощью ПААГ электрофореза в присутствии ДСН. По разработанной методике нами были выделены как полноразмерные eIF4E1 и eIF4E2, так и варианты с усеченными неструктурированными частями (eIF4E1-49aa и eIF4E2-39aa).

Достигнутый результат позволяет использовать разработанные методики для получения eIF4E1 и eIF4E2 в препаративных количествах.

ОПТИМИЗАЦИЯ ЭКСПРЕССИИ И ТЕСТИРОВАНИЯ АКТИВНОСТИ ДНК-ГЛИКОЗИЛАЗЫ MUTYH МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Кручинин А.А.¹, Шилкин Е.С.¹, Жарков Д.О.^{2,3}, Макарова А.В.¹

¹ФГБУ Институт молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия;

²ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия;

³ФГАОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный
университет, Новосибирск, Россия

kruchinin77@gmail.com

ДНК-гликозилаза MUTYH, гомолог MutY у млекопитающих, является одним из ключевых ферментов эксцизионной репарации оснований (ЭРО). MUTYH обеспечивает репарацию аденина, включенного напротив матричного 8-оксогуанина (8-охо-G) – мутагенного повреждения, возникающего в ходе окислительного повреждения ДНК. После гидролиза гликозидной связи между основанием аденина и дезоксирибозой образуется апуриновый/апириимидиновый сайт. Последующий каскад реакций MUTYH-опосредованной ЭРО ведёт к замене некомплементарного дезоксиаденозинмонофосфата на дезоксицитидинмонофосфат, предупреждая трансверсии G:C→T:A и снижая мутагенный потенциал 8-охо-G. ДНК-полимеразы, участвующие в транслезионном синтезе напротив 8-охо-G, точно не определены. Мутации и полиморфизмы в гене MUTYH ассоциированы с наследуемым аутосомно-рецессивным MUTYH-ассоциированным полипозом. Выделение MUTYH человека представляет большие сложности. Был разработан метод выделения и очистки фермента мыши mMUTYH, схожего по структуре и функциям с белком человека. Рекомбинатный mMUTYH был выделен из 10 литров культуры *E. coli*. Трехстадийная очистка mMUTYH с 8xHis тагом производилась с помощью металл-хелатной аффинной хроматографии на Ni-NTA-сефарозе, гепарин-сефарозе и SP-сефарозе. Тестирование ДНК-гликозилазной активности MUTYH проводили на олигонуклеотидных ДНК-дуплексах, меченных с 5'-конца радиоактивным ³²P. Показано, что mMUTYH проявляет активность по отщеплению аденина на матрицах, содержащих A:G и A:8-охо-G, а АП-эндонуклеаза человека



APЕ1 расщепляет АП-сайт, созданный mMUTYH. Добавление APЕ1 в реакцию не оказывает существенного влияния на специфичность активности mMUTYH по отношению к паре А:8-охо-С. Добавление в реакцию транслезионных ДНК-полимераз человека Pol λ и Pol ι без добавления других репликативных факторов не оказало существенного влияния на ДНК-гликозилазную активность mMUTYH. Однако, Pol β подавляла ДНК-гликозилазную активность MUTYH на субстрате с парой А:С, но не А:8-охо-С, повышая специфичность распознавания гликозилазой MUTYH 8-охо-С.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (№ 20-04-00554-а) и РНФ (№ 22-24-20156).

ВЛИЯНИЕ МУТАЦИЙ ГЕНА CHD1 НА ЭКСПРЕССИЮ ДЛИННЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК ROX1 И ROX2

Кучинская Я.А.¹, Репинская Ж.А.², Конев А.Ю.¹

¹ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ
«Курчатовский институт», Гатчина, Россия;

²ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
Санкт-Петербург, Россия

kuchinskaya_yaa@pnpi.nrcki.ru

Процесс дозовой компенсации (ДК) у дрозофилы может выступать в качестве модели для изучения координированных изменений транскрипции на уровне отдельных хромосом и вовлеченных в этот процесс факторов, благодаря работе которых происходит двукратное увеличение экспрессии X-хромосомных генов у самцов. Комплекс дозовой компенсации (КДК) (MSL: male-specific lethal) играет центральную роль в этом процессе. В состав комплекса входят белки MSL1-MSL3, ацетилтрансфераза MOF, РНК геликаза MLE и две длинные некодирующие РНК (roX1 и roX2). Наша работа направлена на выявление возможной функции консервативного хроматин-ремоделирующего фактора CHD1 (chromodomain-helicase-DNA-binding protein 1) в процессе ДК у *D. melanogaster* с помощью анализа влияния этого фактора на изменение уровней экспрессии некодирующих РНК roX1 и roX2. Предпосылкой для исследования послужил факт сильной деформации X-хромосомы у самцов дрозофилы на фоне мутации гена *Chd1*, а также связывание белка CHD1 материнского происхождения у таких особей исключительно с X-хромосомой.

Оценка уровней экспрессии некодирующих РНК roX1 и roX2 у самцов нуль-мутантов и дикого типа проводилось методом ПЦР в реальном времени (ОТ-ПЦР) с использованием в качестве референса гена RpL32. В качестве материала нами использовались слюнные железы, личинки третьего возраста и головы 4-х и 10-дневных имаго. Обработка результатов производилась с помощью программы REST 2009, при этом нормализация велась по референсному гену и по соответствующим значениям дикого типа.

Нами были показаны ткане- и стадийспецифические изменения уровней экспрессии длинных некодирующих РНК roX1 и roX2 в образцах мутантных самцов относительно дикого типа. Так в слюнных железах экспрессия roX2 достоверно увеличена в среднем в 1,5 раза, тогда как уровень экспрессии roX1 существенно не меняется. При этом для целых личинок 3-го возраста наблюдается увеличение уровня экспрессии roX1 в среднем в 3,1 раза, а экспрессия

Федеральный исследовательский центр
«Пушкинский научный центр биологических исследований
Российской академии наук»
Институт теоретической и экспериментальной биофизики
Российской академии наук
Институт белка Российской академии наук

Научное издание

Сборник тезисов

25-ой Пушкинской школы-конференции молодых ученых с международным
участием

«БИОЛОГИЯ – НАУКА XXI ВЕКА».

Материалы изданы в авторской редакции

Подписано в печать 15.04.2022. Формат 60x84/8
Усл. печ. л. 43,77

ФИЦ ПНЦБИ РАН, 2022

ISBN 978-5-91874-907-4