

Литература

1. Шевченко И.Н. Модели для изучения ранних показателей предопухолевого состояния организма // Матеріали III наук-практ.конф. "Проблеми онкогенетики: наукові та прикладні аспекти".-2002.-№4.-С.50-51.
2. Бланцова З.К., Душкин В.А., Малащенко В.М. Линии лабораторных животных для медико — биологических исследований. — М. Наука.- 1983.-С190.
3. Медведев Н.И. Линейные мыши. — Ленинград: Медицина.- 1964.-С18с.
4. Kharkovskaya N.A., Krasnova N.N., Klepicov N.N., Khrustalev S.A. Oncologic and genetic characteristics of A/Sn mice // Exp. Oncol. — 2000. — Vol.22. — P. 157 — 159.
5. Лобанова З.И., Бланцова З.К. Онкологическая характеристика мышей инбредных линий — Москва.-1971.-3.-С.20-22.
6. Cahill D.P., Kinzler K.W., Vogelstein B., Lengauer C. Genetic instability and darvian selection in tumors // Trends in Biology Science, Millenium issue.— 2000.— P. 57–60.
7. Foulds I. Multiple etiologic factors in neoplastic development// Ibid-1980.-40.- P.725-733.

Резюме

Исследована частота возникновения спонтанных опухолей рака молочной железы в процессе длительного скармливания исследуемым мышам биологически активной смеси (БАС). Установлено, что БАС, использованная в качестве добавки к ежедневному рациону животным, оказывает положительное влияние на биологические, физиологические параметры животного и может быть профилактической мерой снижения частоты спонтанного возникновения опухолей и метастазов.

Вивчено частоту виникнення спонтанних новоутворень — раку молочної залози у дослідних мишей на протязі тривалої годівлі біологічно-активної суміші (БАС). Встановлено, що БАС, яка використовувавалась як добавка до щоденного раціону мишам, справляла позитивний вплив на здоров'я та фізіологічні параметри тварин, і може розглядатись як перспективний профілактичний захід з точки зору зменшення частоти спонтанного виникнення новоутворень, та метастазування.

The frequency of appearing of spontaneous swellings of mice breast cancer under conditions of long-lasting feeding with biologically active mixture (BAM) was investigated. It was shown that the BAM used as a component of a daily diet for exerimental animals had positive effect on physiological characteristics and could recommended for decreasing of frequency of spontaneous appearing swelling and metastasises.

ДИБКОВ М.В., МАЛЮТА С.С., ТЕЛЕГЕСВ Г.Д.

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України,

03680 м. Київ, вул. акад. Заболотного 150, e-mail: m.v.dybkov@imbg.org.ua

МУТАЦІЯ V617F ГЕНА *jak2* ЯК МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИЙ МАРКЕР У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНІ МІЄЛОПРОЛІФЕРАТИВНІ ЗАХВОРЮВАННЯ

Одним із важливих аспектів сучасної генетики є використання генетичних маркерів у різних галузях науки і практики, зокрема, у медицині. Молекулярно-генетичні методи діагностики різних захворювань все ширше використовують як при встановленні діагнозів, так і для контролю ефек-

тивності лікування. Це значно прискорює встановлення діагнозу та підвищує його достовірність.

Хронічні мієлопроліферативні захворювання (ХМПЗ) — гетерогенна група неопластичних захворювань, які характеризуються множинною гіперплазією гемопоетичних клітин кісткового мозку. До них відносять хронічну мієлоїдну лейкемію (ХМЛ), хронічну нейтрофілну лейкемію, хронічну еозинофілну лейкемію, справжню поліцитемію, есенціальну тромбоцитемію, ідіопатичний мієлофіброз та хронічні мієлопроліферативні захворювання, неklasифіковані.

Ще кілька років тому лише для хронічної мієлоїдної лейкемії було описано чіткий цитологічний маркер — Ph-хромосому [t(9; 22)(q34; q11)], та, відповідно, молекулярний маркер — злитий ген *bcr/abl*, на виявленні якого за допомогою ЗТ-ПЛР базується переважна більшість діагностичних методик.

Оскільки для решти ХМПЗ донедавна молекулярно-генетичних маркерів не було описано то їх називали Ph-негативними хронічними мієлопроліферативними захворюваннями.

Але в 2005 році було опубліковано роботи [1—4], у яких було описано мутацію в чотирнадцятому екзоні гена *jak2* (який локалізовано на дев'ятому хромосомі), що призводила до заміни G→T і, відповідно, валіну на феніланін у позиції 617. Дана мутація V617F виявляється у 95% хворих на справжню поліцитемію, приблизно у 50% хворих на есенціальну тромбоцитемію та у 20% ідіопатичний мієлофіброз. Вважають, що на функціональному рівні мутації в псевдокіназному домені призводить до порушення регуляції кіназної активності. Це призводить до конститутивної активації тирозинкінази JAK2, і, як наслідок, до збільшення кількості еритроцитів, тромбоцитів та гранулоцитів.

В 2008 році було запропоновано ревізію класифікації та діагностичних критеріїв для мієлопроліферативних захворювань [5—6] в якій мутацію V617F було включено як важливий діагностичний критерій. Так у разі її виявлення виключають вторинну поліцитемію, реактивний тромбоцитоз чи вторинний фіброз кісткового мозку (secondary bone marrow fibrosis) тощо.

У дані роботи наводиться метод виявлення мутації V617F за допомогою ЗТ-ПЛР та прямого секвенування.

Матеріали і методи

У роботі використовували зразки крові хворих (за інформованої згоди), що проходили лікування в гематологічних клініках м. Києва. РНК виділяли згідно [7]. Зворотну транскрипцію проводили в об'ємі 30 мкл у суміші, що містила буфер для зворотної транскриптази, 1 мМ dNTP, 0,1 мкг праймера Random Hexamer Primer, 300 од зворотної транскриптази RevertAid™ M-MuLV Reverse Transcriptase (Fermentas), 20 од РНАзину та 1—3 мкг РНК. Реакцію проводили при 42°C протягом 1 год і зупиняли прогріванням при 70°C 10 хв. Полімеразну ланцюгову реакцію проводили в об'ємі 30 мкл продовж 30 циклів (94°C — 35 с, 55°C — 35 с, 72°C — 45 с.) з використан-

ням буферу для ПЛР, 10 pmol праймерів J1F (5'—CACCAACATATACAGAGCCCTAC—3') та J1R (5'—CCSAGGATCATAAGTTTGATG—3'), 200мкМ dNTP та 2 мкл суміші для отримання кДНК. Для проведення другого етапу ПЛР відбирали по 0,5 мкл реакційної суміші ПЛР і проводили синтез із використанням праймерів J2F (5'—CGGTCAACTGCATGAAACAG—3') та J2R 5'—TTGGCACAATACATCCCATG—3').

В якості позитивного контролю використовували праймери для 18S rRNA (5'—CGGCTACCACATCCAAAGGA-3' та 5'—GCTGGAATTACCSCGGGT-3'). Продукти ампліфікації аналізували в 2% агарозному гелі.

Отримані продукти ПЛР було очищено та секвенувано з використанням праймерів J2F, J2R на автоматичному секвенаторі. Отримані послідовності було проаналізовано для допомогою програм BioEdit та BLAST.

Результати та обговорення

Хоча виявлення мутації V617F можливе і без проведення зворотної транскрипції ми вважаємо за доцільне використання саме ЗТ-ПЛР, оскільки отриману на першому етапі аналізу кДНК можна також використовувати для одночасного виявлення злитого гена *bcr/abl* [8] та інших можливих змін. Тому даний підхід уніфікує початкові процедури дослідження зразків крові. кДНК синтезували з використанням у якості затравки розсіяного праймеру d(NTP)₆, що дозволяє проводити виявлення не тільки мутації в гені *jak2*, а й інших генетичних аномалій, насамперед злитого гена *bcr/abl*.

Використання двоетапної "гніздової" ПЛР викликано двома причинами. Після першого етапу ПЛР кількість ампліфікатів недостатня для секвенування. Але окрім примноження ампліфікату завдяки використанню внутрішніх праймерів забезпечується додаткова специфічність діагностики. Оскільки праймери підбрано на різні екзони гена *jak2*, а він має пром'яжні інтрони, домішки ДНК не можуть впливати на проведення ЗТ-ПЛР. Секвенування ампліфікатів проводили на автоматичному секвенаторі з використанням праймерів (роздільно) J2F та J2R. Секвенування обох ланцюгів ампліфікату слугує для високої надійності виявлення мутації та виключення випадкових артефактів при встановленні послідовності. Мутація V617F, яка як згадували вище, призводить до заміни валін та фенілаланін є наслідком точкової мутації G→T, тобто зміни кодону GTC на TTC.

На рис. 1 представлено електрофореграму продуктів ПЛР та результати секвенування ампліфікатів хворого П., 1950 року народження, яких хворіє на справжню поліцитемію з 1998 р. Як видно з рисунку на денситограмі спостерігаються два піки, що відповідають нуклеотидам C та A в позиції 2343 (наведено секвенс зворотного ланцюга, нумерація згідно послідовності мРНК *jak2* NM_004972.2 Homo sapiens Janus kinase 2), тобто виявляється як нормальний CAG кодон, так і мутантний AAG. Тобто було виявлено мутацію V617F, що є молекулярним підтвердженням поставленого діагнозу "справжня поліцитемія".

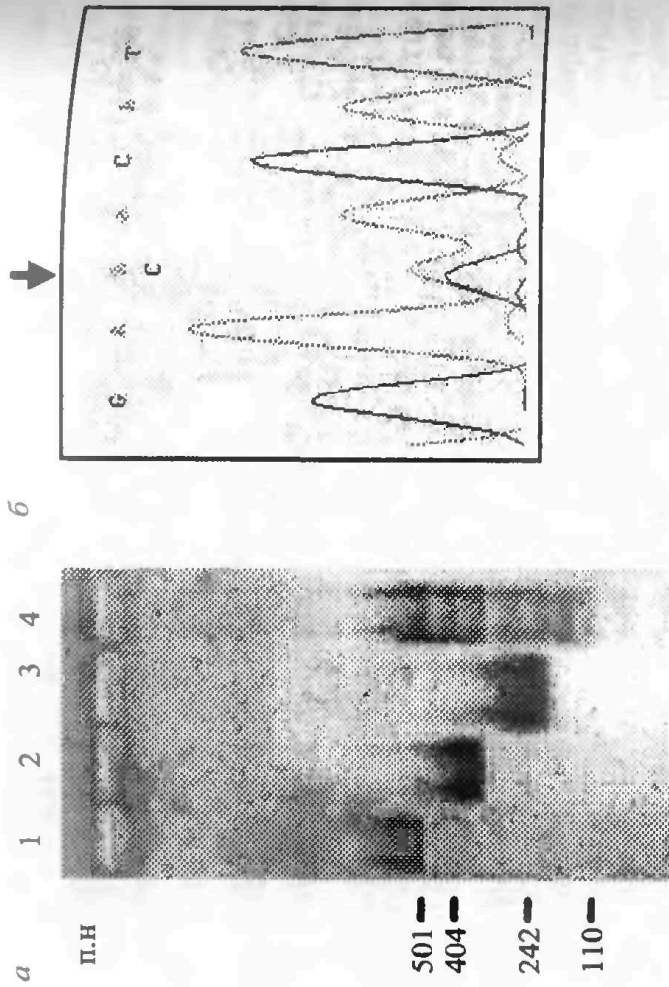


Рис. 1. Электрофорограмма (а) та денситограма сиквенсу послідовності (б) продукту ПЛР, що був отриманий при дослідженні крові хворого П.
 а) 1 – продукт ПЛР, який отримано з використанням праймерів J1F та J1R; 2 – продукт ПЛР, який отримано з використанням праймерів J2F та J2R; 3 – ампліфікована длянка 18s rRNA (позитивний контроль); 4 – маркер молекулярних мас рUC19/MspI. б) Стрількою вказано піки, що відповідають нуклеотидам С/А, які вказують на наявність мутації V617F.

Таким чином, запропонована методика виявлення мутації V617F за допомогою ЗТ-ПЛР та прямого секвенування може використовуватись для молекулярно-генетичної діагностики хронічних мієлопроліферативних захворювань.

Література

1. Baxter E.J., Scott L.M., Campbell P.J., et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders // Lancet 2005. — V.365, N9464. — P. 1054—1061.
2. Kralovics R., Passamonti F., Buser A.S., et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders // N Engl J Med 2005. — V.352, N17. — P. 1779—1790.
3. Levine R.L., Wadleigh M., Cools J., et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis // Cancer Cell 2005. — V.7, N4. — P.387—397.
4. Zhao R., Xing S., Li Z., et al. Identification of an acquired JAK2 mutation in polycythemia vera // J Biol Chem. 2005. — V.280, N24. — P. 22788—22792.

5. Tefferi A., Vardiman J.W. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: The 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms // Leukemia 2008. — V.22. — P. 14—22.

6. Spivak J.L., Silver R.T. The revised World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocytosis, and primary myelofibrosis: an alternative proposal // Blood 2008. — V.112, N2. — P. 231—239.

7. Chomczynski P., Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction // Anal. Biochem. 1987. — V.162. — P. 156—159.

8. Телегев Г.Д., Дибков М.В., Божко М.В. Демиденко Д.В., Малюта С.С., Третьяк Н.М., Бондар М.В. Моніторинг хронічного мієлолейкозу за допомогою молекулярно-біологічних методів (методичні рекомендації) // Республіканський центр науково-медичної інформації, Київ, 1997, 20 стор., іл.

Резюме

Мутація V617F гена *jak2* є важливим діагностичним критерієм при хронічних мієлопроліферативних захворюваннях. Запропоновано методику для її виявлення за допомогою ЗТ-ПЛР та прямого секвенування.

Мутація V617F гена *jak2* являється важливим діагностичним критерієм при діагностиці хронічних мієлопроліферативних захворювань. Предложена методика ее выявления с помощью ОТ-ПЛР и прямого секвенирования.

V617F mutation *jak2* gene is an important diagnostic criterion for the diagnosis of chronic myeloproliferative disorders. The method of detection using RT-PCR and direct sequencing was proposed.

ЛИБСЬКИЙ С.С.

Науковий Центр радіаційної медицини АМН України, Україна, 04050, Київ, вул. Мельникова, 53, e-mail: dssdsdss@rambler.ru

ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДУ FISH ДЛЯ ВЕРИФІКАЦІЇ ДОЗ ОПРОМІНЕННЯ У 180 ЛІКВІДАТОРІВ ЧОРНОБІЛЬСЬКОЇ АВАРІЇ

Починаючи з 1999 р., в лабораторії цитогенетики НЦРМ АМН України в рамках Українсько-Американського проекту “Лейкемія” вперше в Україні вивчались можливості методу флюоресцентної *in situ* гібридизації метафазних хромосом людини з ДНК-зондами до цільних хромосом (FISH WHP) для ретроспективної реконструкції доз опромінення у ліквідаторів Чорнобильської аварії [1]. Було підтверджено, що метод FISH WCP може бути успішно застосований у віддалені строки після опромінення людини для індикації радіаційної дії та групової біологічної дозиметрії в широкому діапазоні доз. В той же час, значна варіабільність спонтанної та радіаційно-індукованої частоти реципрокних транслокацій, а також специфіка цитогенетичного ефекту при дуже високих дозах опромінення (елімінація мультиаберантних клітин, що містять як стабільні, так і нестабільні аберації) суттєво обтяжують індивідуальну реконструкцію доз опромінення в діапазоні як малих, так і дуже великих доз. Тому на сьогодні реальним залишається використання FISH аналізу для встановлення та верифікації доз опромінення у людини в діапазоні доз ~ 30 — 200 сГр [1 — 3].

То, що інтересует завтрашних лікарів, не может и не должно оставлять равнодушными будущих провизоров. Поскольку, ключевым звеном формирования спроса на БЛП и биотехнологические медицинские услуги являются врачи, то компетенция провизоров в области биотехнологии должна позволять полностью удовлетворять спрос на весь спектр БЛП и сопроводжающую его фармацевтическую информацию.

После завершения тем курса проводятся контрольные работы в форме теста, который позволяет в короткий срок оценить и в полной мере охарактеризовать полученные знания студентов. Тесты помогают студентам выделить главные аспекты, на которые необходимо обратить внимание при подготовке к экзамену.

Резюме

Статья посвящена методическим подходам к организации учебного процесса, проведению занятий и оценке качества полученных студентами знаний в ходе освоения ими фармацевтической и медицинской биотехнологии. В статье приводится способ контрольного анализа знаний студентов по предметам «Медицинская биотехнология» и «Фармацевтическая биотехнология» на медицинском факультете Российского университета дружбы народов. Основной курс преподавания предмета разбит на 4 авторских модуля включающих теоретический лекционный материал сопровождающийся мультимедийными показами, решение ситуационных задач по изучаемым темам, ознакомление с образцами реальных биотехнологических объектов. После завершения тем курса проводятся тестовые контрольные работы, который помогает быстро оценить полученные знания студентов. Использование этого метода позволяет повысить эффективность учебного процесса.

ТЕЛЕГЕСЬ Г.Д., МРОШНИЧЕНКО Д.О., МАЛЮТА О.В., КРАВЧУК І.В., ЛИСЕЦЬКА Т.Ю., ДИБКОВ М.В., МАЛЮТА С.С.

Институт молекулярной биологии і генетики НАН України, Україна, 03680, Київ, вул. Заболотного, 150 e-mail: g.d.telegeev@imbg.org.ua

ВИВЧЕННЯ *VCR* ЧАСТИНИ ГІБРИДНОГО ГЕНА *VSCR-ABL* ЯК ШЛЯХ ДО РОЗУМІННЯ ПАТОГЕНЕЗУ ЛЕЙКЕМІЙ ПРИ ТРАНСЛОКАЦІЇ (9:22)

Хронічна мієлоїдна лейкемія (ХМЛ) зустрічається приблизно у 20% хворих на лейкемії у дорослих (1). Головну роль в патогенезі цього захворювання відіграє гібридний ген *bcr-abl*, продукт реципрокної транслокації (9:22). Він кодує дві кінази (серія-треонин кіназу в *bcr* частині, та тирозинкіназу в *abl* частині) гібридного гена. Головна увага у попередніх дослідників була зосереджена на вивченні та блокуванні *Abl* кіназної активності. Це призвело до розробки специфічних інгібіторів *Abl* кінази, що значно поліпшило лікування хворих на цю патологію. Проте, дуже часто, під час лікування селекуються патологічні клони, що є нечутливими до інгібіторів. Це обумовлює необхідність подальшого вивчення молекулярного патогенезу хвороби, пошук нових цілей для терапії.

Дана робота присвячена вивченню іншої, важливої частини онкопротейну, а саме продукту гена *bcr*. В нашому полі зору був один з кількох доменів цього протеїну, а саме РН домен.

Матеріали і методи

Отримання ДНК-конструкцій. РН ділянку *bcr* було отримано методом ЗТ-ПЛР з клітин крові пацієнтів (за інформованої згоди останніх). Фрагмент розміром 648 п.о. було клоновано в вектор для бактеріальної експресії рЕТ-32а. Всі конструкції було перевірено автоматичним секвенуванням.

Виділення білків, що зв'язуються з РН доменом *Vcr* методом афінної хроматографії. Білок РН експресували в клітинах *E.coli* лінії BL21 DE3 і виділяли на колонці Ni-NTA (Qiagen, USA) згідно протоколу виробника. Для аналізу білок-білкових взаємодій РН домену було використано колонку зі зв'язаним білком. На колонку зі зв'язаним РН білком наносили 0,5 мл лізату клітин K562 з загальною концентрацією білка 1 мг/мл і інкубували 12 год при +4°C. Після інкубації і промивки зразки аналізували методом двомірного електрофорезу. В якості контролю використовували білок, експресований з "порожнього" вектора рЕТ32а.

Аналіз білків, що були преципітовані РН доменом. Білки розділяли методом двомірного електрофорезу з градієнтом рН 3-10. Детекцію радіоактивно-мічених білків клітин K562 проводили на сканері Fuji X2000. Зразки вирізували із гелю, обробляли трипсином і аналізували методом мас-спектрометрії MALDI TOF MS на спектрометрі Bruker Biflex. Для ідентифікації пептидних спектрів було застосовано програму ProFound.

Імунопреципітація білків, що зв'язуються з РН доменом *Vcr*. Для аналізу було використано клітини 293Т, трансфектовані конструкціями, що експресували РН домен і відповідний білок-мишень (zizimin1 або РLС?). В якості негативного контролю було використано конструкцію, яка не містила РН домену. Білок РН мав епітоп пус на N-кінці, zizimin1 — HA фрагмент, РLС? — flag-фрагмент для полегшення їх детекції. Імунопреципітацію проводили з anti-пус антитілами.

Результати та обговорення

РН домен (від "pleckstrin homology") — один з найбільш представлених у протеомі людини, він знайдений у 252 протеїнах, має близько 100-120 амінокислотних залишків і відіграє роль в клітинному сигналінгу, транспорті мембран, організації цитоскелету, модифікації фосфоліпідів (2). В попередній роботі ми показали, що РН домен *Vcr* з високою афінністю взаємодіє з Ptd Ins(3)P, Ptd Ins(3)P, Ptd Ins(5)P (3). Це дозволяє визначити важке розгашування BCR у клітині, що обумовлює його участь в клітинних процесах. Взаємодія з клітинними ліпідами є характерною для приблизно 10-15% всіх РН доменів, крім того вона не виключає можливість взаємодії з клітинними білками.

Для визначення білків, що зв'язуються з РН доменом *Vcr* in vitro, клітини K 562 (бластна криза ХМЛ) вирощували у середовищі з [S³⁵] — метіоні-

№	Назва білки	Номер в базі NCBI	Виродність ідентифікації пептидного мас-спектру	EstZ	Післядов-ності пептиду	pI	M _r (kDa)	Теоретичні параметри	
								18	9.4
1	Ribosomal protein P2	NP 000995.1	9.7e+001	0.62	45	4.4	11.65	18	9.4
2	F-actin binding protein	NP 065910.1	1.0e+000	1.11	10	8.1	218.24	18	9.4
3	SMC1	NP 006297.2	9.6e+001	1.02	21	7.6	143.84	18	9.6
4	Keratin 10, type I, cytoskeletal	KRN10	1.0e+000	1.91	27	5.2	59.74	18	9.6
5	hypotetical protein	CAD38623.1	1.0e+000	1.80	18	9.4	198.11	18	9.6
6	pRb-interacting protein RbBP-36	AAV7322.1	6.5e+001	0.67	22	6.3	61.20	18	9.6
7	Oncogene EMS1	NP 612632.1	1.0e+000	1.40	27	5.2	57.62	18	9.6
8	Collagen IV, a1 polypeptide	NP 001836.1	1.0e+000	1.85	21	8.9	161.73	18	9.6
9	Heat shock protein 27	AAA62175.1	1.0e+000	2.16	48	8.1	22.42	18	9.6
10	Formin-binding protein 17	AAK49824.1	9.7e+001	0.67	17	5.9	78.53	18	9.6
11	Interferon-gamma-inducing protein 1 long form	BAV17050.1	5.7e+001	0.28	13	8.4	99.81	18	9.6
12	hypotetical protein	CAD38684.1	1.0e+000	1.78	20	6.5	87.64	18	9.6
13	β-5-tubulin	NP 821133.1	1.0e+000	2.39	32	4.8	50.11	18	9.6
14	Ubiquitin specific protease 1	NP 003359.1	1.0e+000	1.29	23	5.4	89.22	18	9.6
15	Zizimin 1	CAC27814.1	1.0e+000	1.34	22	7.6	178.03	18	9.6
16	PLCε	NP 006217.1	1.0e+000	1.06	27	5.4	114.54	18	9.6
17	Rho-GTPase activating protein 7	NP 872584.1	9.5e+001	1.21	16	6.0	172.29	18	9.6
18	Golgi sialylglycoprotein MG-160	Q92896	9.8e+001	0.63	18	6.5	138.46	18	9.6
19	Nuclear factor NF-κappa-B inhibitor kinase β	O14920	9.7e+001	1.20	26	5.6	87.57	18	9.6
20	β-2-tubulin	NP 006079.1	1.0e+000	1.94	23	4.8	50.27	18	9.6
21	Zinc finger protein 217	NP 006517.1	1.0e+000	1.30	18	9.3	117.14	18	9.6
22	KIAA0853	NP 055885.2	1.0e+000	1.36	11	9.6	185.24	18	9.6
23	hypotetical protein	CAD898999.1	1.0e+000	1.72	18	9.4	198.00	18	9.6

ном. Усі білки, в такому випадку, мали радіоактивний сигнал, що дозволяє виділяти їх від бактеріальних, присутніх у препараті білка РН, зв'язаного з колонкою Ni-NTA. Отримані білки розділяли методом двовимірного елек-трофорезу з подальшим аналізом методом мас-спектрометрії. Всього було ідентифіковано 23 білки, що потенційно можуть зв'язуватись з РН (табл. 1).

Найбільш представленими у вищезазначеному переліку є білки, що беруть участь у метаболічних процесах клітини і складають 25% (рис. 1), мембранному транспорту — 19%, передачі сигналу — 17%.

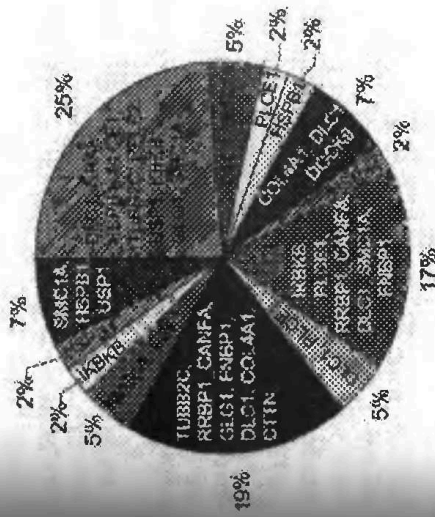


Рис. 1. Функціональний розподіл білків, що взаємодіють з РН доменом

Для подальшого вивчення білок-білкових взаємодій були відібрані: SMC1 (structure maintenance chromosome), Tubulin b, Zizimin 1, PLCε (Phospholipase Ce). За допомогою гібридизації із специфічними антитілами (SMC1, Tubulin b) та імунопреципітацією РН домену з Zizimin 1 і PLCε була підтвержена їх взаємодія.

Серед визначених можливих білків-партнерів можна виділити IKKβ, який є кіназою інгібітора NFκB і бере безпосередню участь у запуску сигнального шляху, що закінчується родинною транскрипційних факторів NFκB. Це видається особливо цікавим з огляду на той факт, що даний сигнальний шлях задіяний і є важливим у випадку Vtg/Ab1-опосередкованої трансформаци, хоча точний механізм його активації поки невідомий. Інший білок EMS1 (кортактин) задіяний у ряді важливих клітинних процесів, зокрема він залучений у інтерналізації рецепторів, що може бути одним з важливих етапів появи цитокінової незалежності у клітинах, що експресують Vtg-Ab1. На основі наявних даних розроблені можливі схеми сигнальних шляхів, залучених в канцерогенез.

Наступним кроком у цих дослідженнях мають бути встановлення не тільки нових партнерів по зв'язуванню, але і конкретні частини молекул, які відповідають за взаємодію з РН доменом. Також важливим є виявлення молекулярних наслідків цих білкових взаємодій та їх можливий внесок у трансформацию клітини.

Відомо, що після стимуляції CSF відбувається активація P13K, а також міграція Rac2 до фагосом (5, 6), де вже розташований Vcr, за рахунок взаємодії PH домену з Ptd Ins3P (3). Це дозволяє пояснити існування так званого "oxidative burst" в нейтрофілах vcr-null трансгенних мишей (6). Втрата GTP-аз активуючої активності Vcr призводить до постійної активації Rac2, з подальшою активацією NADPH оксидазного комплексу (7,8). Роль саме білку Vcr-Ab1 в такому процесі ще потрібно прояснити, хоча відомо, що при ХМЛ спостерігається зниження рівня секреції внутрішньоклітинних гра-нул та фагоцитозу (9,10).

Література

1. Quintas-Cardama A., Cortes J. Molecular biology of vcr-ab1-positive chronic myeloid leukemia // Blood — 2009 — V.113, N 8. — P.1619—1630.
2. Lemmon M.A. Pleckstrin homology (PH) domains and phosphoinositides // Biochem Soc Symp. — 2007. — 74. — P. 81—93.
3. Телегев Г.Д., Мірошниченко Д.О., Мельникова О.Є., Романова І.О., Дибков М.В., Малюта С.С. Вивчення ролі ендогенних чинників в патогенезі лейкозів при транслокації (9;22) // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології. Збірник наукових праць. — Київ, "Логос", 2007. Т.1. — С. 530—533.
4. Ellison C.D., Anderson K.E., Morgan G., Chilvers E.R., Lipp P., Stephens L.R., Hawkins P.T. Phosphatidylinositol 3-phosphate is generated in phagosomal membranes / Curr Biol. — 2001. — V. 11, N20. — P.1631—1635.
5. Cho Y.I., Cunnick J.M., Yi S.J., Kaartinen V., Groffen J., Heisterkamp N. Abr and Vcr, two homologous Rac GTPase-activating proteins, control multiple cellular functions of murine macrophages. // Mol Cell Biol. — 2007. — V.27, N3. — P. 899—911.
6. Voncken J.W., van Schaick H., Kaartinen V., Deemer K., Coates T., Landing B., Pattengale P., Dorseuil O., Bokoch G.M., Groffen J. Increased neutrophil respiratory burst in vcr-null mutants // Cell. — 1995. — V.80, N5. — P. 719—728.
7. Bokoch G.M., Diebold B.A. Current molecular models for NADPH oxidase regulation by Rac GTPase // Blood. — 2002. — V.100, N8. — P. 2692—2696.
8. Kaartinen V., Gonzalez-Gomez I., Voncken J.W., Haataja L., Faure E., Nagy A., Groffen J., Heisterkamp N. Abnormal function of astroglia lacking Abr and Vcr RacGAPs // Development. — 2001. — V. 128, N21. — P. 4217—4227.
9. Nuyanzina V.A., Nabokina S.M. Identification of exocytosis mediator proteins in peripheral blood neutrophils of patients with chronic myeloid leukemia // Bull Exp Biol Med. — 2004. — V. 137, N.4. — P. 361—363.
10. Kobayashi S.D., Yoyich J.M., Burtak S., DeLeo F.R. Neutrophils in the innate immune response // Arch Immunol Ther Exp (Warsz) — 2005. — V. 53, N6. — P. 505—517.

Резюме

Vcr є складовою частиною гібридного гену *vcr-ab1*, що утворюється при лейкозії (9;22). Саме він є модулюючим фактором, що визначає гостроту і характер захворювання. У роботі, за допомогою очищеного рекомбінантного PH домена Vcr, вивчали його взаємодію з білками клітини. Встановлена взаємодія з 23 клітинними білками, а більш детально з'ясовано зв'язок з SMC1, Tubulin b, Zizimin 1, PLCE. Обговорюється роль білка Vcr у патогенезі при ХМЛ.

Vcr являється складовою частиною гібридного гену *vcr-ab1*, що утворюється при лейкозії (9;22). Саме він є модулюючим фактором, що визначає гостроту і характер захворювання. В роботі, за допомогою очищеного рекомбінантного PH домена Vcr, вивчали його взаємодію з білками клітини. Встановлена взаємодія з 23 клітинними білками, а більш детально з'ясовано зв'язок з SMC1, Tubulin b, Zizimin 1, PLCE. Обговорюється роль білка Vcr у патогенезі при ХМЛ.

PH домена Vcr, изучали его взаимодействие с белками клетки. Установлено взаимодействие с 23 клеточными белками, а более детально установлена связь с SMC1, Tubulin b, Zizimin 1, PLCE. Обсуждается роль белка Vcr в патогенезе при ХМЛ.

Vcr is the essential component of the hybrid *vcr-ab1* founded in (9;22) leukemias. Namely Vcr modulates the development of the different forms of leukemias. In this work, using recombinant PH domain of Vcr, the interaction with 23 cellular proteins was identified and binding with SMC1, Tubulin b, Zizimin 1, PLCE was confirmed. Role of Vcr protein in CML pathogenesis was discussed.

ТИРКУС М. Я.

ДУ «Інститут спадкової патології АМН України»
Україна, 79000, Львів, вул. ЛИСЕНКА, 31а, e-mail: tyrkus.m@ihr.lviv.ua

ЧАСТОТА І СПЕКТР МІКРОДЕЛЕЦІЙ У-ХРОМОСОМИ У ЧОЛОВІКІВ З РІЗНИМИ ФОРМАМИ ПОРУШЕННЯ СПЕРМАТОГЕНЕЗУ

Сперматогенез — складний багатостадійний процес в контроль, регуляцію і реалізацію якого залучено більше 2000 генів, серед яких центральне місце займають гени У-хромосоми. Результати молекулярно-генетичних досліджень свідчать про те, що мікроделеції AZF локусу є однією з найбільш частих (мажорних) генетичних причин непліддя у чоловіків при важких формах порушення сперматогенезу.

Зокрема, на довгому плечі У-хромосоми (Yq) в проксимальній еухроматиновій її ділянці містяться гени фактору азооспермії (AZF- region), які відповідають за нормальний сперматогенез. Делеції AZF- регіону супроводжуються важкими порушенням фертильності [1].

Вперше роль делецій локусу Yq11 в етіології порушення процесів сперматогенезу було показано в 1976 р. Tierolo і Zuffardi [2]. Подальші цитогенетичні та молекулярно-генетичні дослідження дозволили за допомогою Sts-технології побудувати детальну карту У-хромосоми, що включає 43 делеційні інтервали та підтвердили наявність в дистальній ділянці довгого плеча У-хромосоми локусу AZF, делеції якого супроводжуються порушеннями процесів сперматогенезу та чоловічим непліддям [3]. Так, при таких важких формах порушення сперматогенезу, як азооспермія та олігозооспермія, мікроделеції AZF локусу У-хромосоми виявляють у 5-15% обстежених. Причому, частота мікроделецій зростає по мірі поглиблення порушень процесів сперматогенезу: мікроделеції AZF локусу У-хромосоми виявлені у 5-10% чоловіків з олігозооспермією, в той час, як у чоловіків з азооспермією, що передбачає складніші порушення, цей показник сягає 10-15% [4,5].

У 1996 р. Vogt із співавт. [6] на основі одержаних даних про локалізацію та розмір делецій, запропонували виділити в локусі Yq11.21-q11.23 три субрегіони: AZFa, AZFb і AZFc. Зараз в літературі широко дискутується взаємозв'язок між чоловічою інфертильністю та частотою і спектром мікроделецій AZF регіону У-хромосоми. Зокрема, вважається, що найчастіше при чоловічому неплідді зустрічаються делеції локуса AZFc, але найважчими

Національна академія наук України
Українська академія аграрних наук
Академія медичних наук України
Українське товариство генетиків і селекціонерів
ім. М.І. Вавилова

ФАКТОРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ЕВОЛЮЦІЇ ОРГАНІЗМІВ

Збірник наукових праць

ТОМ 7

Присвячено

200-річчю від дня народження

Чарльза Роберта Дарвіна

125-річчю від дня народження

І.І. Шмальгаузена

Київ
ЛОГОС
2009

ГУЛЬКО Т.П., КОВАЛЬЧУК М.В. ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО- ГЕНЕТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МЫШЕЙ, ПРЕДРАСПОЛОЖЕННЫХ К СПОНТАННЫМ НОВООБРАЗОВАНИЯМ	330
ГУЛЬКО Т.П., ЛИХАЧЕВА Л.И., МАЦЕВИЧ Л.Л., КОРДЮМ В.А. ВЛИЯНИЕ СКАРМЛИВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ СМЕСИ (БАС) НА ЧАСТОТУ СПОНТАННЫХ ОПУХОЛЕЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У МЫШЕЙ	336
ДИБКОВ М.В., МАЛЮТА С.С., ТЕЛЕГЕСВ Г.Д. МУТАЦІЯ V617F ГЕНА <i>jak2</i> ЯК МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИЙ МАРКЕР У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНІ МІСЛОПРОЛІФЕРАТИВНІ ЗАХВОРЮВАННЯ	341
ДИБСЬКИЙ С.С. ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДУ FISH ДЛЯ ВЕРИФІКАЦІЇ ДОЗ ОПРОМІНЕННЯ У 180 ЛІКВІДАТОРІВ ЧОРНОБИЛЬСЬКОЇ АВАРІЇ	345
ДЬОМІНА Е. А., ДЕМЧЕНКО О. М., САВКІНА М. Ю ХАРАКТЕР КАЛІБРУВАЛЬНИХ ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ КРИВИХ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ІНДИВІДУАЛЬНОЇ РАДІОЧУТЛИВОСТІ ЛЮДИНИ	350
ЗАГАНЯЧ Я.Ю., ТЕРПИЛЯК О.І., ЗАСТАВНА Д.В. ІМУНОГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ РАНИХ РЕПРОДУКТИВНИХ ВТРАТ У ЖІНОК ІЗ СХИЛЬНІСТЮ ДО УРОГЕНІТАЛЬНИХ ІНФЕКЦІЙ	353
КРАСНОВ М.С., СМУТОВА В.А., МАРГАСЮК Д.В., БЕРЕЗИН Б.Б., БИТКО С.А., ЯМСКОВА В.П., ЯМСКОВ И.А. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И АКТИВНОСТЬ В СВЕРХМАЛОЙ ДОЗЕ БИОРЕГУЛЯТОРА, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ СЕМЕННИКОВ КРЫС	358
ПЛІНСЬКА М.А., ДИБСЬКИЙ С.С., ДИБСЬКА О.Б., ПЕДАН Л.Р. РЕАЛІЗАЦІЯ ПРИХОВАНОЇ ХРОМОСОМНОЇ НЕСТАБІЛЬНОСТІ В СОМАТИЧНИХ КЛІТИНАХ ЛЮДИНИ У ВІДДАЛЕНІ СТРОКИ ПІСЛЯ ЧОРНОБИЛЬСЬКОЇ АВАРІЇ	364
ПИЛИПЕНКО А.С., ЖУРАВЛЕВ А.А., РОМАЩЕНКО А.Г., КОБЗЕВ В.Ф., МОЛОДИН В.И. ГЕНОФОНД МТДНК НАСЕЛЕНИЯ ЛЕСОСТЕПНОЙ ПОЛОСЫ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ ЭПОХИ РАЗВИТОЙ БРОНЗЫ: ВЛИЯНИЕ МИГРАЦИОННЫХ ПОТОКОВ	363
ПИЛИПЕНКО И.В., ЧЕРДЫНЦЕВА Н.В., КОБЗЕВ В.Ф., ВОЕВОДА М.И., РОМАЩЕНКО А.Г. АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА P_{53} С ФОРМИРОВАНИЕМ И РАЗВИТИЕМ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСА ОПУХОЛИ	372
СТЕФАНОВИЧ Г.В., БАРИЛЯК І.Р., БУДЕРАЦЬКА Н.О. ЗАЛЕЖНІСТЬ ХАРАКТЕРИСТИКИ ООЦИТІВ ТА РАНИХ ЕМБРІОНІВ, ОТРИМАНИХ В ПРОГРАМАХ ЗАПЛІДНЕННЯ <i>IN VITRO</i> , ВІД ВІКУ ЖІНКИ	375
СУСЛИНА С.Н., САМАТАДЗЕ Т.Е., НИКИТИНА З.К., ЛИВШИЦ В.А., БЫКОВ В.А. ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРЕПОДАВАНИЯ БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ВРАЧЕЙ И ПРОВИЗОРОВ НА МЕДИЦИНСКОМ ФАКУЛЬТЕТЕ РОССИЙСКОГО УНИВЕРСИТЕТА ДРУЖБЫ НАРОДОВ	379

ТЕЛЕГЄЄВ Г.Д., МІРОШНИЧЕНКО Д.О., МАЛЮТА О.В., КРАВЧУК І.В., ЛИСЕЦЬКА Т.Ю., ДИБКОВ М.В., МАЛЮТА С.С.	
ВИВЧЕННЯ ВСR ЧАСТИНИ ГІБРИДНОГО ГЕНА ВСR-ABL ЯК ШЛЯХ ДО РОЗУМІННЯ ПАТОГЕНЕЗУ ЛЕЙКЕМІЙ ПРИ ТРАНСЛОКАЦІЇ (9:22)	382
ТИРКУС М. Я.	
ЧАСТОТА І СПЕКТР МІКРОДЕЛЕЦІЇ Y-ХРОМОСОМИ У ЧОЛОВІКІВ З РІЗНИМИ ФОРМАМИ ПОРУШЕННЯ СПЕРМАТОГЕНЕЗУ	387
ТКАЧОВА Д.Л., ДУГАН О.М.	
ПОТЕНЦІЙНА МУТАГЕННА ДІЯ КОПЧЕНИХ М'ЯСОПРОДУКТІВ	392
ТРЕТЯК Б.І., ЗАСТАВНА Д. В., МАКУХ Г. В.	
ДЕЛЕЦІЙНИЙ АНАЛІЗ ГЕНІВ SMN ТА NAIP У ПАЦІЄНТІВ З РІЗНИМИ ТИПАМИ СПІНАЛЬНОЇ М'ЯЗОВОЇ АТРОФІЇ ІЗ ЗАХІДНОГО РЕГІОНУ УКРАЇНИ	398
ТЫЖНЕНКО Т.В., КАРАЧЕНЦЕВ Ю.И., ПОЧЕРНЯЕВ А.К., ГОРШУНСКАЯ М.Ю., АТРАМЕНТОВА Л.А., КРАВЧУН Н.А. ПОЛТОРАК В.В.	
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОТИПОВ ПО ЛОКУСАМ PON1 И ARM1В ГРУППЕ ДОНОРОВ НАСЕЛЕНИЯ ХАРЬКОВА	403
ЧЕРЕДНИК Ю.А., КУЗЬМИН А.В., ЧЕРНОУСОВА Л.Н., АНОПРИЕНКО О.В., ГОРОВЕНКО Н.Г., КОСТРОМИНА В.П., БЕЛОГОРЦЕВА О.И.	
ДНК-ДИАГНОСТИКА И ГЕНОТИПИРОВАНИЕ M.TUBERCULOSIS У ДЕТЕЙ С ЛЕГОЧНОЙ ФОРМОЙ ТУБЕРКУЛЕЗА	407
ШАПОШНИКОВА В. М.	
ЧАСТОТА ВРОДЖЕНИХ ВАД РОЗВИТКУ У НОВОНАРОДЖЕНИХ ЧЕРКАСЬКОЇ ОБЛАСТІ	412
ШВАЧКО Л.П., ТЕЛЕГЕЄВ Г.Д.	
АЛЬТЕРНАТИВНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ДНК – МЕТИЛТРАНСФЕРАЗНЫХ ГЕНОВ В ДИНАМИКЕ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ	416
ШЕМЕТУН О.В., ТАЛАН О.О.	
ІНДУКЦІЯ ЕФЕКТУ СВДІКА ЛІМФОЦИТАМИ КРОВІ ЛІКВІДАТОРІВ АВАРІЇ НА ЧАЕС, ОПРОМІНЕНИМИ В МАЛИХ ДОЗАХ	421
ШТАНДЕЛЬ С.А.	
ПОДВЕРЖЕННОСТЬ УЗЛОВОМУ НЕТОКСИЧЕСКОМУ ЗОБУ ЖИТЕЛЕЙ ГОРОДА ХАРЬКОВА	425
ШУСТИКОВА М.В.	
ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ РАЗЛИЧИЙ ПО УРОВНЮ АГРЕССИВНОГО РЕАГИРОВАНИЯ У ПОТОМКОВ СЕМЕЙ С РАЗЛИЧНОЙ СТРУКТУРОЙ	430
ЩЕРБАКОВА О.В., МАТІЙЦІВ Н.П., МАКСИМІВ Д.В.	
ВИЯВЛЕННЯ МЕХАНІЗМІВ КЛІТИННОЇ СМЕРТІ У НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНИХ МУТАНТІВ DROSOPHILA MELANOGASTER	436