

результатов, можно сделать вывод о вероятном участии некодирующей антисмысловой РНК в регуляции генов системы кворум сенсинга *Pto*.

## **ПОЛУЧЕНИЕ ГЕНОМНЫХ БИБЛИОТЕК АКТИВНЫХ ПРОМОТОРОВ**

**Дидыч Д.А., Медведева Н.И., Копанцев Е.П., Акопов С.Б., Николаев Л.Г.,  
Свердлов Е.Д.**

ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и  
Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

*dmitry\_D@inbox.ru*

В работе предложена стратегия получения высокообогащенных библиотек геномных промоторов, активных в желаемых линиях клеток. Принцип отбора активных промоторов основан на их свойстве инициировать транскрипцию репортерного гена. Нами был сконструирован самоинактивирующийся лентивирусный вектор, содержащий беспромоторный репортерный ген зеленого флуоресцентного белка, а также ген устойчивости к пуромицину под контролем промотора *mP<sub>gk</sub>-1*. Перед репортерным геном в положение «промотора» были клонированы обработанные ультразвуком фрагменты геномной ДНК человека с длинами 650-950 п.н. Из полученной клонотеки был выделен пул лентивирусных плазмид, содержащих 400 тысяч уникальных фрагментов генома, которым трансфицировали клетки пакующей линии для получения лентивирусных частиц. Вирусными частицами проводили трансдукцию клеток линии А-431. После трансдукции и последующей селекции клеток на пуромицине был проведен отбор GFP-позитивных клеток с применением FACS-сортировщика. С помощью ПЦР из отобранных клеток были выделены фрагменты ДНК, которые повторно клонировали в лентивирусный вектор для проведения второго раунда селекции по описанной выше схеме. После второго раунда селекции была получена библиотека фрагментов, обогащенная промоторами. Анализ отдельных фрагментов библиотеки показал, что 80 процентов из них проявляют промоторную активность в клетках линии А-431. Были выявлены фрагменты, проявляющие двунаправленную промоторную активность. С помощью массивного параллельного секвенирования фрагментов библиотеки были определены нуклеотидные последовательности их концов. Анализ распределения отобранных промоторов в геноме человека подтвердил их преимущественную локализацию в функциональных областях. Предложенный подход в дальнейшем планируется применять в качестве первого этапа при создании библиотек промоторов с разной клеточной специфичностью, например, при получении библиотек раковоспецифических промоторов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках проектов № 14-04-31976 мол\_а и № 13-04-01765а.

## **ВЛИЯНИЕ ОГРАНИЧИТЕЛЬНОЙ ДИЕТЫ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ ОСОБЕЙ *DROSOPHILA MELANOGASTER* СО СВЕРХАКТИВАЦИЕЙ ГЕНОВ ЦИРКАДНЫХ РИТМОВ**

**Добровольская Е.В.<sup>1</sup>, Плюснина Е.Н.<sup>1,2</sup>, Соловьев И.А.<sup>2</sup>, Москалев А.А.<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Сыктывкарский государственный университет, Сыктывкар; <sup>3</sup>ФГАОУ ВПО Московский физико-технологический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия

*dobrovolskaya.evgenia@gmail.com*

С возрастом наблюдается усугубление нарушений ритмики физиологической активности, апериодизма циклов сна и бодрствования. Процесс старения связан с изменениями уровня экспрессии различных генов. Не являются исключением и гены, формирующие систему «биологических часов» организма. Молекулярные часы можно обнаружить в каждой клетке периферических тканей многоклеточных организмов. Основным экологический фактор, с которым связывается ритмика биологических процессов – свет, с суточными и годовыми колебаниями его интенсивности связаны такие явления как сон, двигательная активность,