

производимые ими расселительные личинки – церкарии, генетически идентичны, так как являются продуктом диплоидного (апомиктического) партеногенеза. Тем не менее, на ряде видов трематод с помощью молекулярных методов показано, что у особей партеногенетического поколения можно наблюдать клональную изменчивость. Для изучения возможной роли транспозонов в формировании такого полиморфизма генотипировали клоны церкарий *H.elongata* методом S-SAP (Sequences Specific Amplification Polymorphism). В результате выявлен полиморфизм паттернов генотипирования церкарий. В полиморфных и консервативных фрагментах электрофоретического разделения продуктов S-SAP выявлены последовательности, имеющие высокую степень сходства с ретроэлементами CR1, RTE, gypsy и SR2. Дисперсное распределение CR1-подобных последовательностей в геноме *H.elongata* подтвердили методом флуоресцентной *in situ* гибридизации. Сигналы сконцентрированы в некоторых районах ядер и хромосом, но не образуют больших кластеров. Полиморфные фрагменты преимущественно содержат последовательности gypsy- и copia-подобных ретроэлементов.

Таким образом, на основании полученных результатов можно утверждать, что ретроэлементы генома *H.elongata* вносят вклад в клональную изменчивость церкарий при выявлении методом S-SAP.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ЛЕЧЕНИЮ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА. ОПТИМИЗАЦИЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛИНИЙ ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА И РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ПРОТОЧНОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СОРТИРОВКИ КЛЕТОК НА ОСНОВании ИХ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА (ММР)

Старостина И.Г., Иванова В.В., Ризванов А.А.

ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

fairin@mail.ru

Объектом исследования являются культуры клеточных линий фибробластов человека с болезнью Паркинсона. Задачей проекта является разработка методов тестирования потенциальных лекарственных препаратов на основе метаболического стресса клеток и выявление эффективных комбинаций микро-РНК, генетических препаратов и химических веществ с потенциальным терапевтическим эффектом для лечения Болезни Паркинсона и других нейродегенеративных состояний спорадического характера.

Ввиду поставленной задачи, на данном этапе нами был осуществлен поиск наилучшей клеточной линии фибробластов, разработаны методы подготовки клеточных линий к скринингу *in vitro*, составлен план работ для скрининга *in vivo* (на модели грызунов) потенциальных лекарственных средств. Произведена теоретическая разработка концепции применения эпигенетического репрограммирования в контексте терапии болезни Паркинсона. Оптимизированы протоколы культивирования первичных культур клеток фибробластов от пациентов с болезнью Паркинсона и проведен их анализ.

Были оптимизированы условия культивирования и жизнеспособность фибробластов линии ВJ в среде с глюкозой и галактозой. Методом восстановления резазурина определяли жизнеспособность клеток. Данный метод позволяет рассчитать коэффициент пролиферации клеток, способных к последовательному клеточному делению. Резазурин фактически снижен в митохондриях, что представляет собой весьма полезный способ оценки митохондриальной метаболической активности. Было выбрано оптимальное количество клеток, необходимое для выживания и адаптации клеток в условиях отсутствия глюкозы и наличия галактозы, что являлось необходимым условием для усиления активности митохондрий. Параметры изменения содержания общей клеточной массы белка при учете времени культивирования определялись с использованием количественного анализа сульфородамина Б (СРБ). Сульфородамин Б связывается с основными аминокислотами клеточных белков. Колориметрическое определение количества обеспечивает оценку общей белковой массы, которая соотносится с количеством клеток.

Сравнивались значения культивирования фибробластов в стандартной питательной среде с глюкозой и в среде при отсутствии глюкозы и наличии галактозы.