

зондов используется ПЦР с биотинилированными праймерами. Биотинилированные ПЦР-продукты в дальнейшем гибридизуются с Hi-C или 3C-seq библиотекami. Для достижения максимальной эффективности обогащения мы используем в C-TALE дополнительный раунд гибридизации. Таким способом нам удается добиться обогащения целевыми фрагментами в несколько тысяч раз, сравнимого с обогащением в других протоколах CaptureHi-C. Для построения Hi-C карт с высоким разрешением в областях обогащения протяженностью до полутора миллионов п.о. нам требуется всего порядка 10 миллионов парноконцевых прочтений. На полученных нами методом C-TALE Hi-C картах довольно четко различимы топологические домены и петли. Визуальное сравнение Hi-C карт, полученных нами методом C-TALE, с картами (полученными конвенциональным Hi-C) тех же участков генома, уже опубликованных другими авторами, указывает на их качественное совпадение. Таким образом, сложная процедура C-TALE не вносит существенных артефактов в первоначальную библиотеку продуктов лигирования. Разработка общедоступного метода исследования пространственной укладки хроматина с разрешением порядка нескольких тыс. п.о., такого как C-TALE, открывает путь для изучения базовых наднуклеосомных механизмов компактизации хроматина в ядре позвоночных.

ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ТРАНСПОРТЕРОВ ГЛЮКОЗЫ В ЭНТЕРОЦИТАХ ТОНКОЙ КИШКИ КРЫСЫ: УЧАСТИЕ В ЭТОМ ПРОЦЕССЕ ЭНДОСОМ И ЛИЗОСОМ. *Н.М. Грефнер,¹ Л.В. Громова,² Я.Ю. Комиссарчик.¹* ¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург и ²Институт физиологии им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, ngrefner@yandex.ru

Транспорт глюкозы через апикальную и базолатеральную мембрану энтероцитов осуществляется переносчиками SGLT1 и GLUT2. Динамика этих процессов в норме и патологии достаточно хорошо изучена физиологами, в то время как морфологические аспекты остаются неизвестными. В частности, неизвестны пути транспорта этих белков внутри клетки, их связь с внутриклеточными структурами и элементами цитоскелета. В настоящее время исследователи обратили внимание на этот пробел. К сожалению, большинство появившихся работ выполнены на светоптическом уровне с помощью конфокального микроскопа. Иммуноцитохимические исследования на уровне электронного микроскопа практически отсутствуют. Наши попытки проводить такого рода исследования на препаратах, заключенных в смолу, оказались неудачными, так как белки-транспортёры повреждались в процессе препарирования. По этой причине для иммуноцитохимического исследования мы использовали ультратонкие криосрезы.

При подготовке препаратов кусочки кишечника крысы фиксировали в смеси 2 % формальдегида и 0.1 % глутаральдегида на фосфатном буфере. После фиксации образцы инкубировали в растворе глицина, связывающем альдегидные группы, и пропитывали раствором желатина в возрастающих концентрациях (от 2 до 12%). Затем препараты переносили в раствор 2.3 М

сахарозы, которая служила криопротектором. Полученные блоки замораживали в этане, охлажденном жидким азотом на установке Leica EM GP. Ультратонкие криосрезы получали с помощью криоультратома LeicaEMUCT7. Срезы после иммуномечения контрастировали смесью водного раствора уранилацетата и метилцеллюлозы. Окрашенные срезы просматривали на электронном микроскопе Libra 120 (CarlZeiss).

Результаты исследования показали, что метка к транспортеру SGLT1 расположена преимущественно в области микроворсинок. Метка к транспортеру GLUT2 встречается как в области микроворсинок, так и вблизи базолатеральной мембраны. При усилении всаивания глюкозы в кишечнике метка к GLUT2 становится многочисленной в области микроворсинок, что свидетельствует о включении GLUT2 в транспорт глюкозы через апикальную мембрану энтероцита.

Метки к транспортерам заключены в везикулы, которые обнаруживаются в разных отделах клетки. Иммуномечение антителами к белкам-маркерам EEA1, RAB7 и LAMP1 показало, что эти мембранные структуры могут являться ранними и поздними эндосомами и (или) лизосомами. Чтобы выяснить, какие именно структуры содержат транспортеры глюкозы, мы использовали двойную иммунную метку к транспортерам глюкозы и эндосомам или лизосомам. Мы обнаружили колокализацию метки к GLUT2 и RAB7 (маркер поздних эндосом), а также колокализацию метки к SGLT1 с метками EEA1 (маркер ранних эндосом) и RAB7. В дальнейшей работе мы планируем более детально рассмотреть взаимодействие транспортеров глюкозы с мембранными структурами клетки и проследить перемещение транспортеров внутри энтероцитов.

Работа выполнена на базе Ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» Санкт-Петербургского государственного университета.

КОНСЕРВАТИЗМ БЕЛКОВ МЕЙОТИЧЕСКОЙ РЕКОМБИНАЦИИ И ИЗМЕНЧИВОСТЬ ХРОМОСОМНЫХ БЕЛКОВ, СПЕЦИФИЧНЫХ ДЛЯ МЕЙОЗА, В ФИЛОГЕНЕЗЕ ЗУКАРИОТ. *Т.М. Гришаева, Ю.Ф. Богданов.* Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва. grishaeva@vigg.ru

Проведено сравнение последовательностей аминокислот в ортологах белков, специфичных для мейоза, у растений *Arabidopsis thaliana*, грибов *Saccharomyces cerevisiae* и *Schizosaccharomyces pombe*, нематоды *Caenorhabditis elegans*, насекомого *Drosophila melanogaster*, рыбы *Danio rerio*, мыши *Mus musculus* и человека. Использован показатель относительного сходства Score в % от максимально возможного сходства «сам на себя». Наиболее консервативным из изученных белков оказался медиатор рекомбинации RAD51 (сходство от 45% при сравнении нематоды и дрозофилы и до 89—99% в подтипе позвоночных). Его мейотический гомолог DMC1 есть не у всех организмов, но он не менее консервативен: 49% сходства между DMC1 *A. thaliana* и *S. cerevisiae* и 89—97% сходства среди позвоночных. Функциональные домены белков RAD51 и DMC1 несколько более консервативны. Нижние пределы их сходства составляют, соответственно, 63 и 58 %.