



Иммуногенетическая лаборатория

НИИ КП АГУ



Иммуногенетическая лаборатория НИИ комплексных проблем

Годовой отчет за 2015 г.

Руководитель: д.б.н. Тугуз А.Р.

Сотрудники иммуногенетической лаборатории

- Тугуз А.Р. д.б.н. - зав. лабораторией
- Муженя Д.В. – к.б.н. инженер - генетик
- Руденко К.А. – инженер - молекулярный биолог
- Шумилов Д.С.- аспирант
- Смольков И.В.- аспирант
- Татаркова Е.А.- аспирантка

Тема: Исследование иммуногенетических механизмов развития злокачественных новообразований, сердечно-сосудистых и аутоиммунных заболеваний на примере населения Республики Адыгея.

Актуальность:

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), солидные злокачественные новообразования (ЗНО) женских репродуктивных органов, хронические воспалительные заболевания легких (ХВЗЛ) – бронхиальная астма (БА) относятся к социально значимым заболеваниям, на лечение которых расходуется до 10% ресурсов общественного здравоохранения, а социально-экономический ущерб определяется прямыми и косвенными медицинскими затратами, связанными в первую очередь с высокой смертностью. Проблема высокой заболеваемости и смертности населения обусловлена низкой эффективностью существующей первичной профилактики социально значимых заболеваний, связанная с проблемой выявления ведущего этиологического фактора их развития. Поэтому в мировой практике современных научных исследований по фундаментальной медицине большое внимание уделяют молекулярно-генетическим методам анализа с идентификацией генетических предикторов ЗНО женских репродуктивных органов, ХВЗ и ССЗ – полиморфизмов спектра маркерных генов.

Основные направления исследований:

1. Анализ распределения протективных и ассоциированных с риском развития ССЗ, БА, ЗНО женских репродуктивных органов специфичностей HLA, полиморфизмов генов Toll-подобных рецепторов (TLR), спектра про- и противовоспалительных медиаторов иммунной системы - цитокинов, генов-супрессоров опухолевого роста (BRCA), интегринов, селектинов.
2. Формирование базы данных: «Протективные и ассоциированные с ССЗ, БА и ЗНО женских репродуктивных органов полиморфизмы генов в этнических группах населения РА».
3. Типирование полиморфных вариантов генов, влияющие на функциональную активность клеточного и гуморального звена иммунной системы: баланс цитокинов; функциональную активность мононуклеарных клеток крови (МНК), спонтанную и стимулированную продукцию медиаторов иммунной системы.

Предполагаемое использование результатов:

- Разработка и реализация программ охраны здоровья населения, сохранение биологической стабильности этносов на основе ранней донозологической диагностики социально-значимых заболеваний.
- Полученные результаты исследования будут использованы для формирования единого регионального информационного пространства по вопросам промоции здоровья, донозологической диагностики и профилактики, основных социально значимых заболеваний в декретированных группах населения.

Проект разработан в соответствии с законодательными документами РФ в системе здравоохранения:

- Распоряжение Правительства РФ № 2511-р от 24 декабря 2012 года об утверждении «Государственной программы развития здравоохранения Российской Федерации»;
- Федерального закона Российской Федерации от 21 ноября 2011 г. N 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации»;
- Рекомендации №206-ВС от 15 января 2008 г.;
- Приказа Минздравсоцразвития России №187 от 22 марта 2006 г.

Тема:

Исследование иммуногенетических механизмов развития злокачественных новообразований, сердечно-сосудистых и аутоиммунных заболеваний у жителей Республики Адыгея (РА)

Методы:

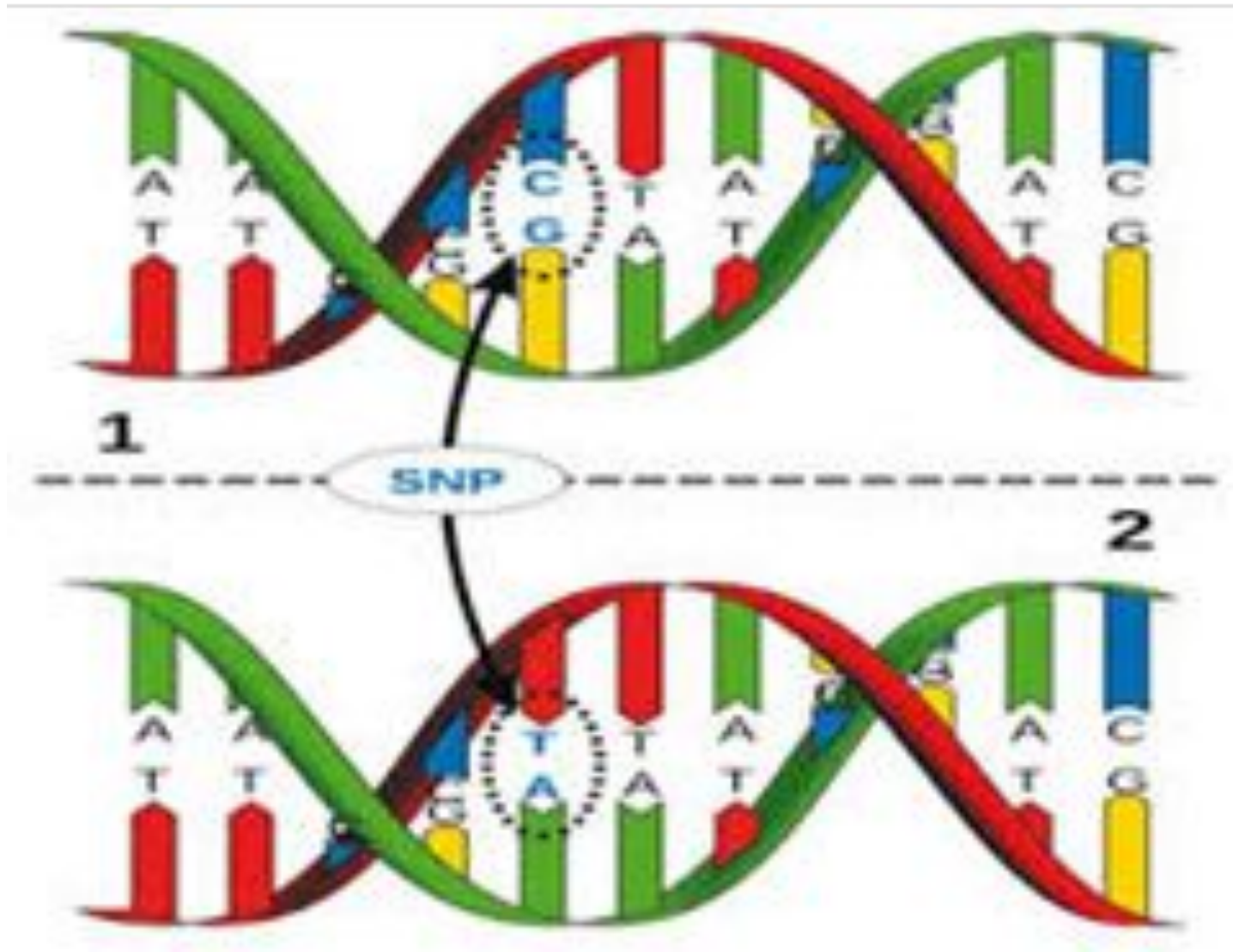
Полимеразная цепная реакция



Возможности ПЦР

- Типирование генных мутаций, связанных с заменой, делецией или инверсией одного или нескольких нуклеотидов.
- Исследование однонуклеотидных полиморфизмов или SNP (от англ. Single nucleotide polymorphism) – отличий последовательности ДНК размером в один нуклеотид (А, Т, G или С) в геноме человека, которые могут быть ассоциированы с социально-значимыми мультифакторными заболеваниями

SNP - Single nucleotide polymorphism



Методы:

Иммуноферментный анализ (ИФА)



Выделение из биоматериалов и культивирование клеточных линий:

нейтрофилов

мононуклеарных клеток (МНК)

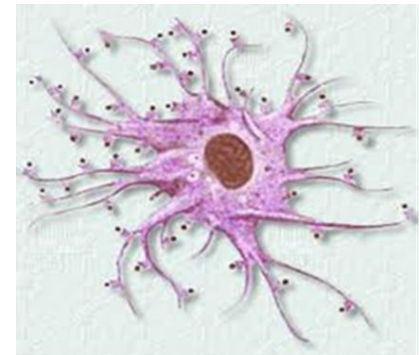
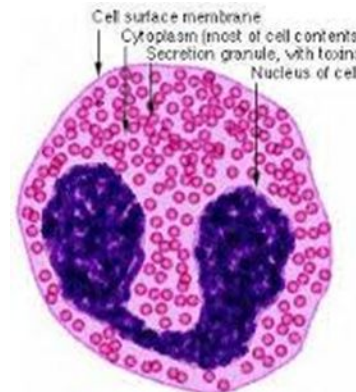
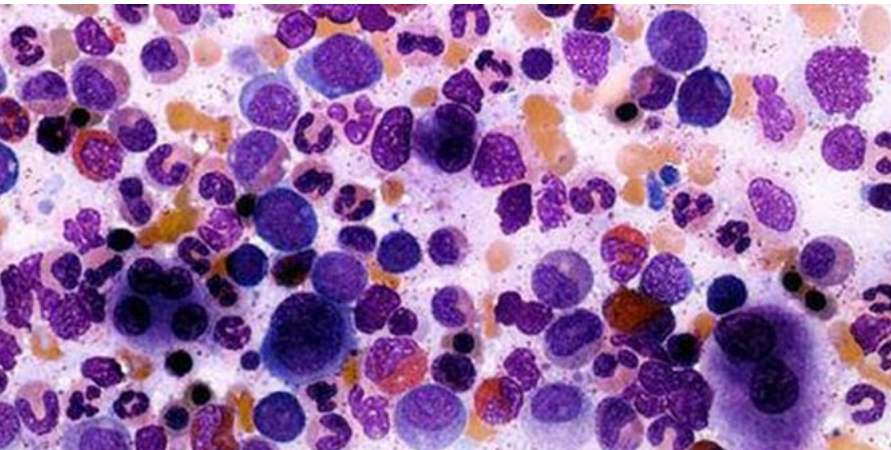
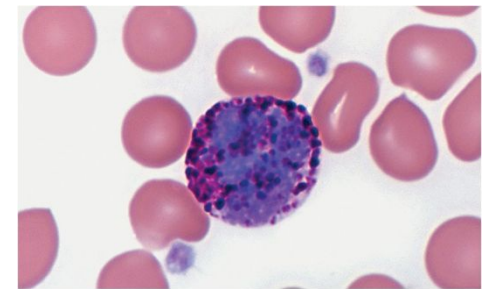
периферической крови

дендритных, опухолевых

клеток



Medic-ABC.ru

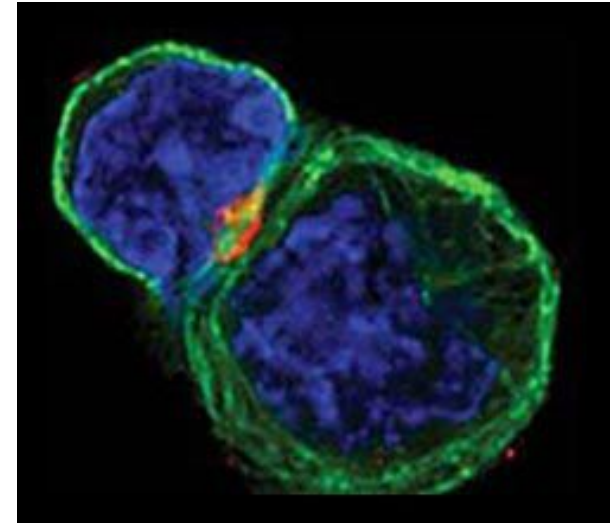
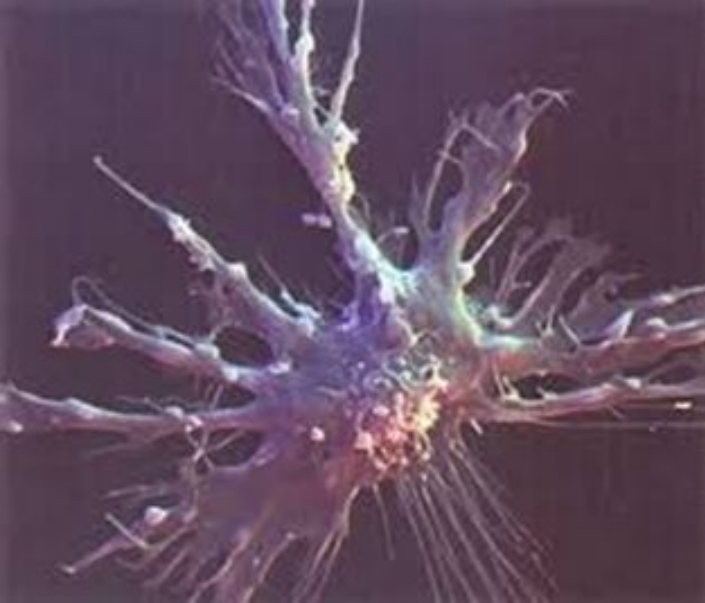


Иммунофенотипирование

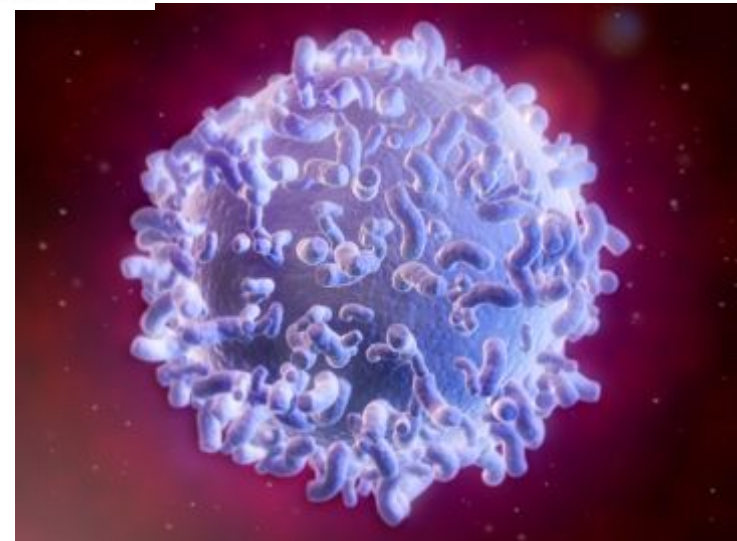
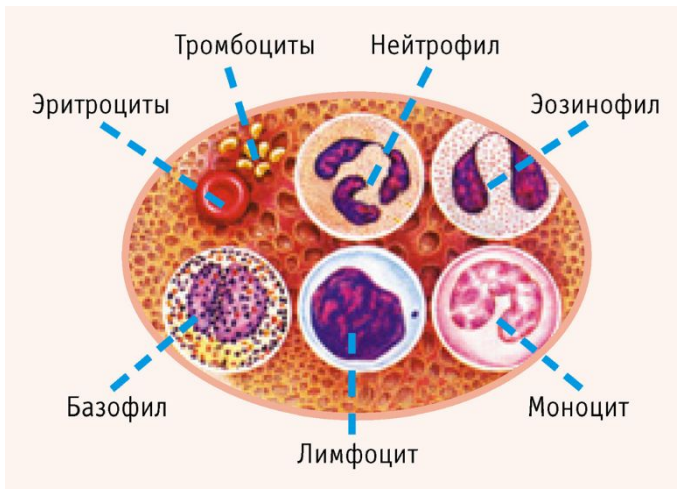
лимфоцитов, дендритных, стволовых, опухолевых

клеток

Иллюстрации из интернета



Medic-ABC.ru



Дендритная клетка (красная, с синим ядром) поглощает лейшманию (зелёный)

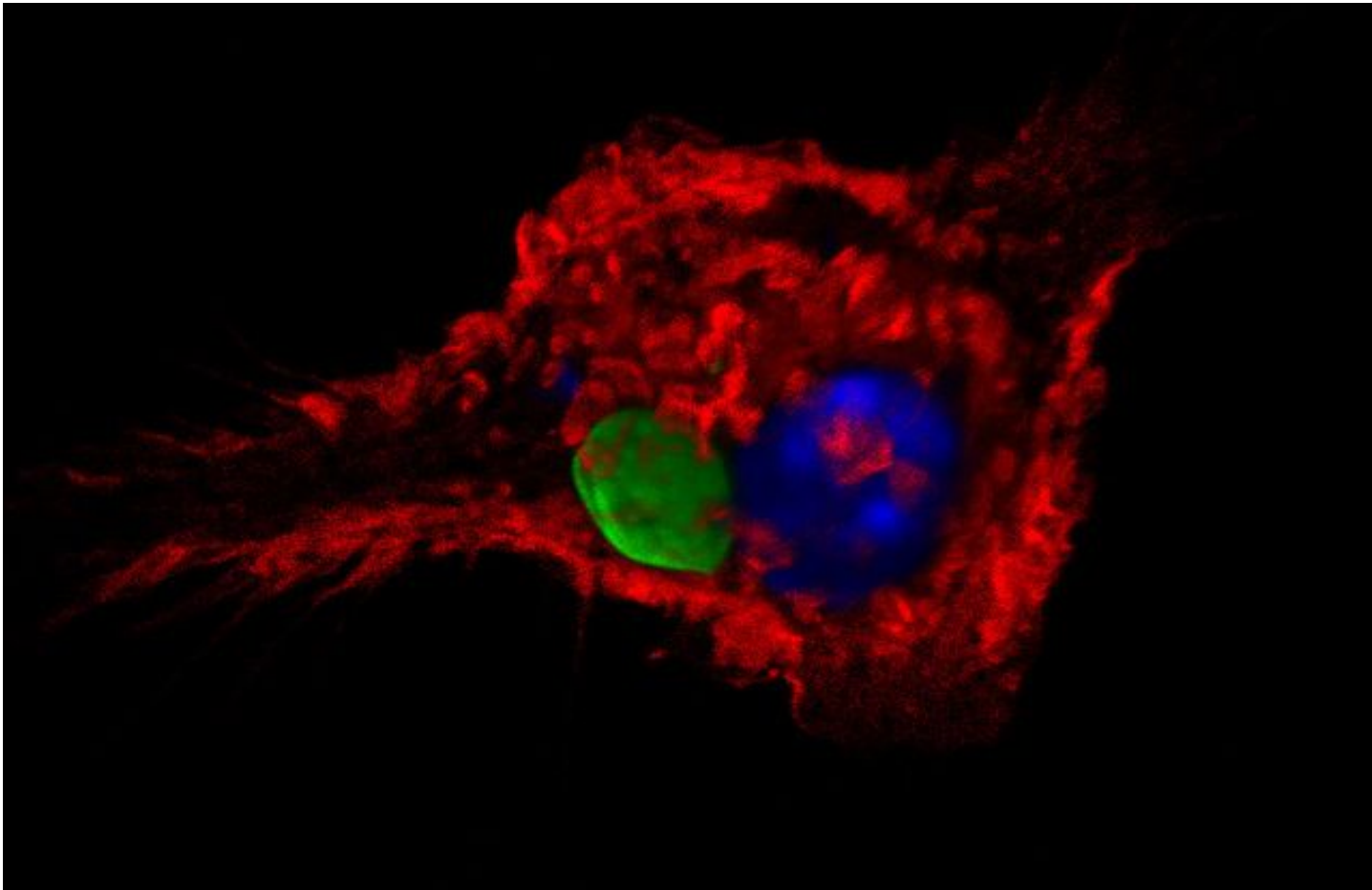
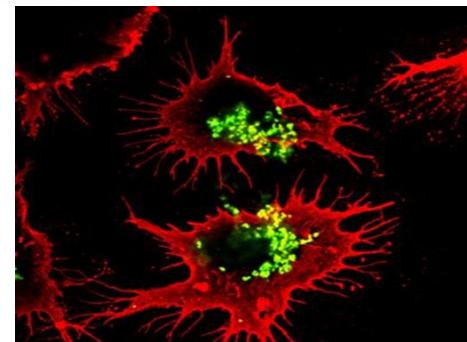
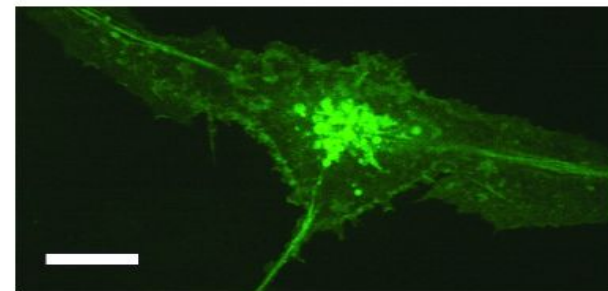
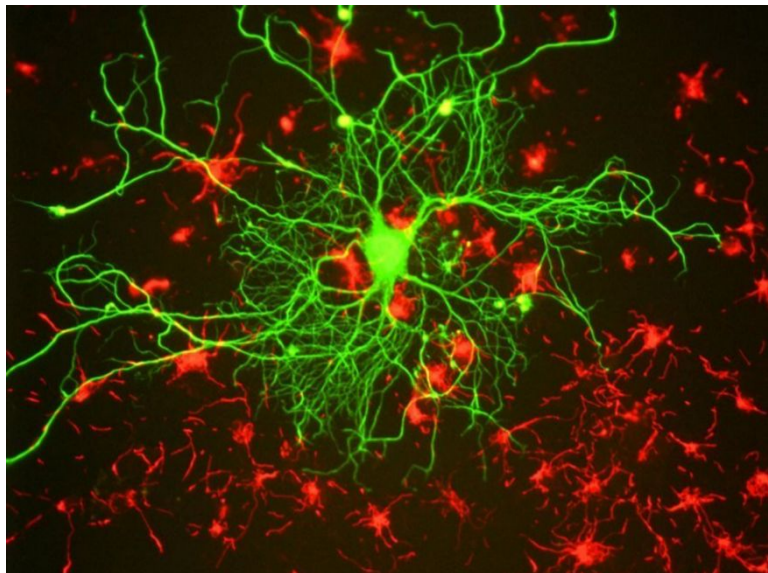


фото из интернета

Иммуногистохимия

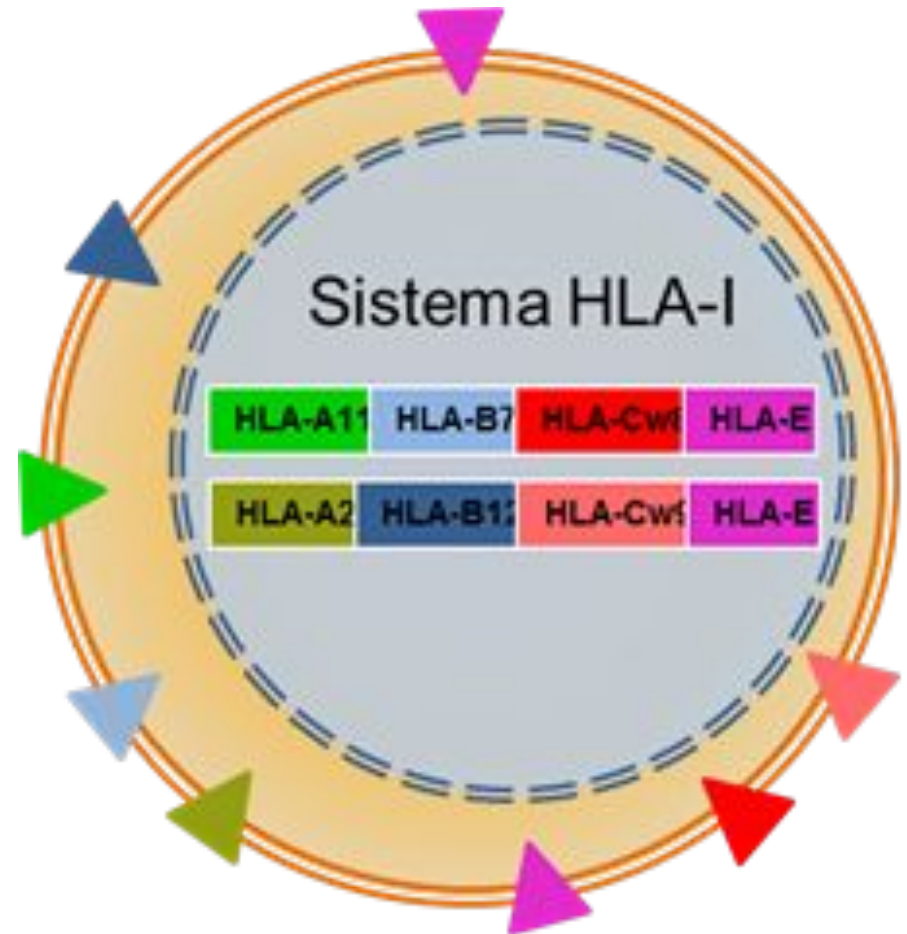
фото из интернета



HLA-типирование специфичностей

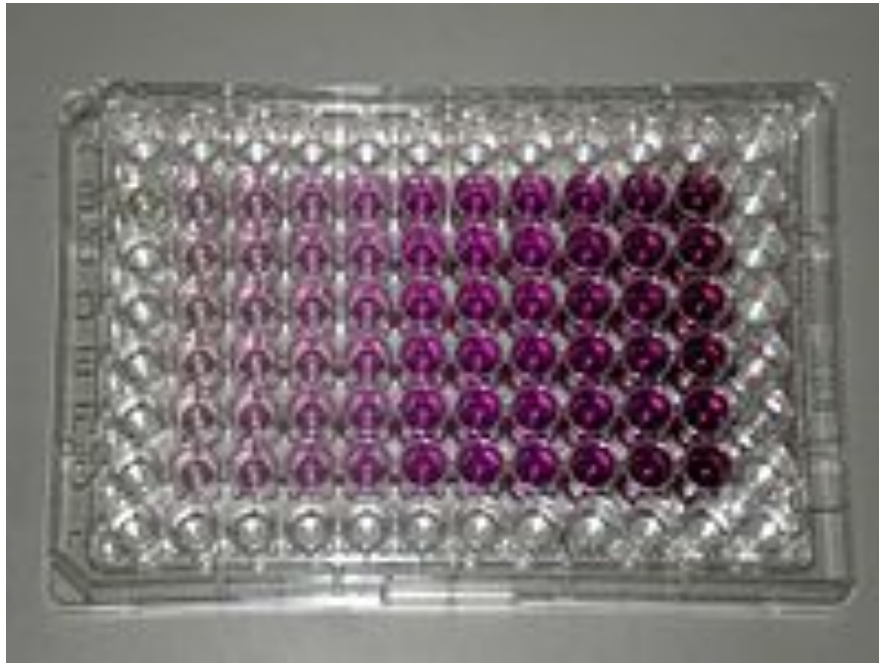
главного комплекса гистосовместимости

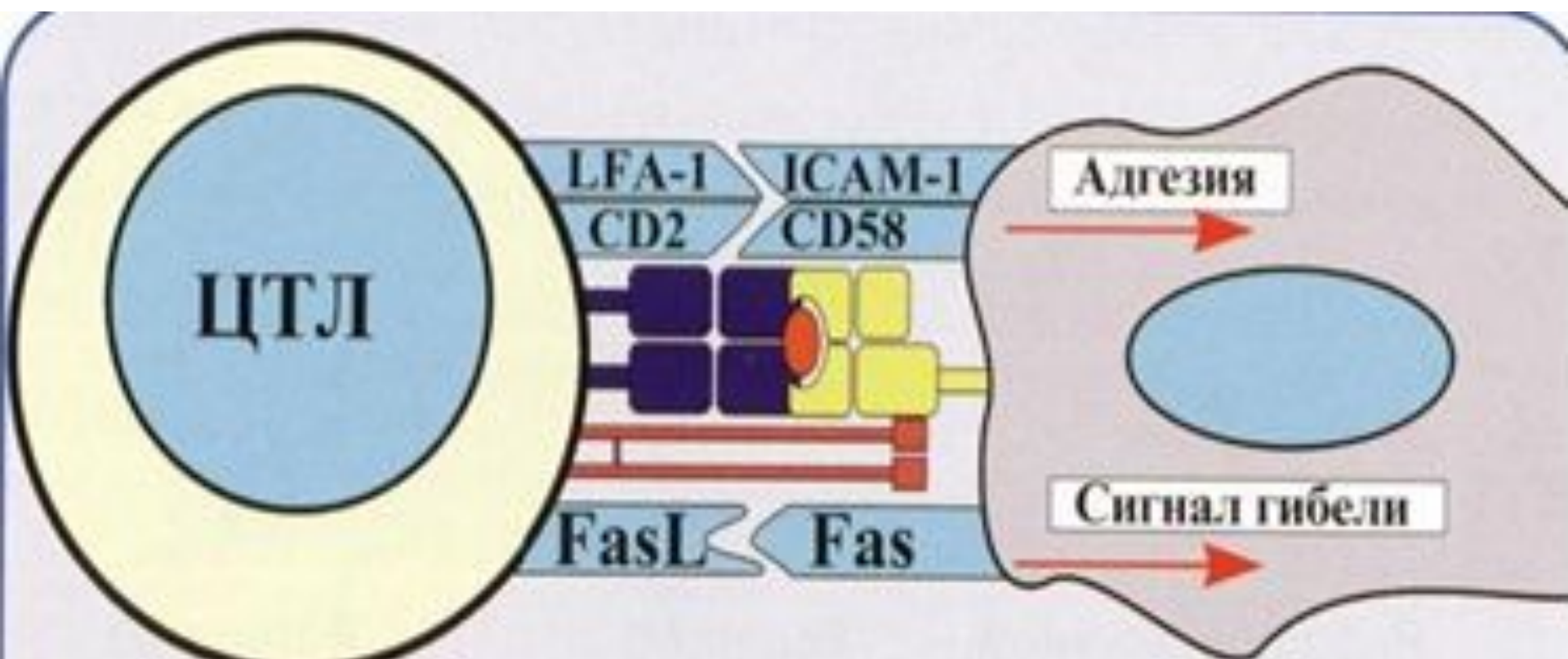
Индивидуальная
устойчивость или
предрасположенность
к сердечно-
сосудистым,
онкологическим и др.
заболеваниями



Цитотоксический тест

Анализ киллерной активности лимфоцитов:
противоопухолевой цитотоксической активности
природных и синтетических соединений с
использованием витального красителя бромид
3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-тертазолия (МТТ).





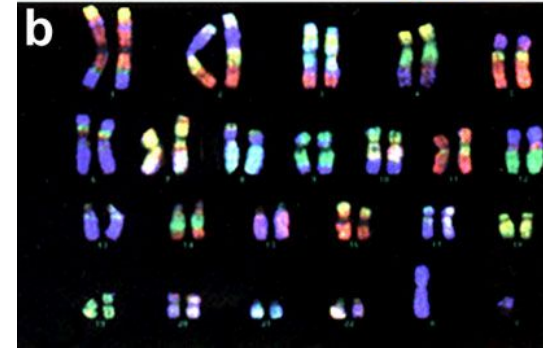
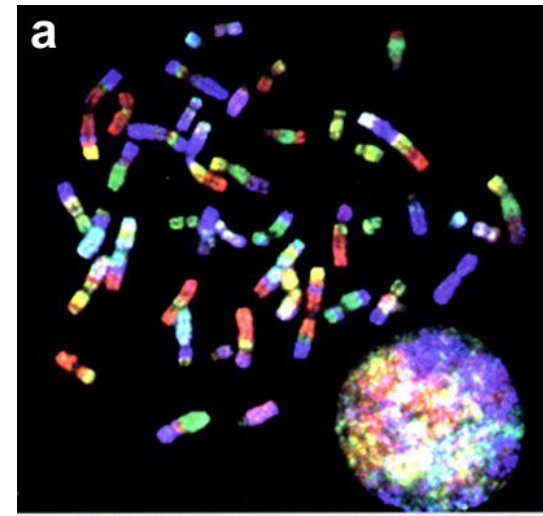
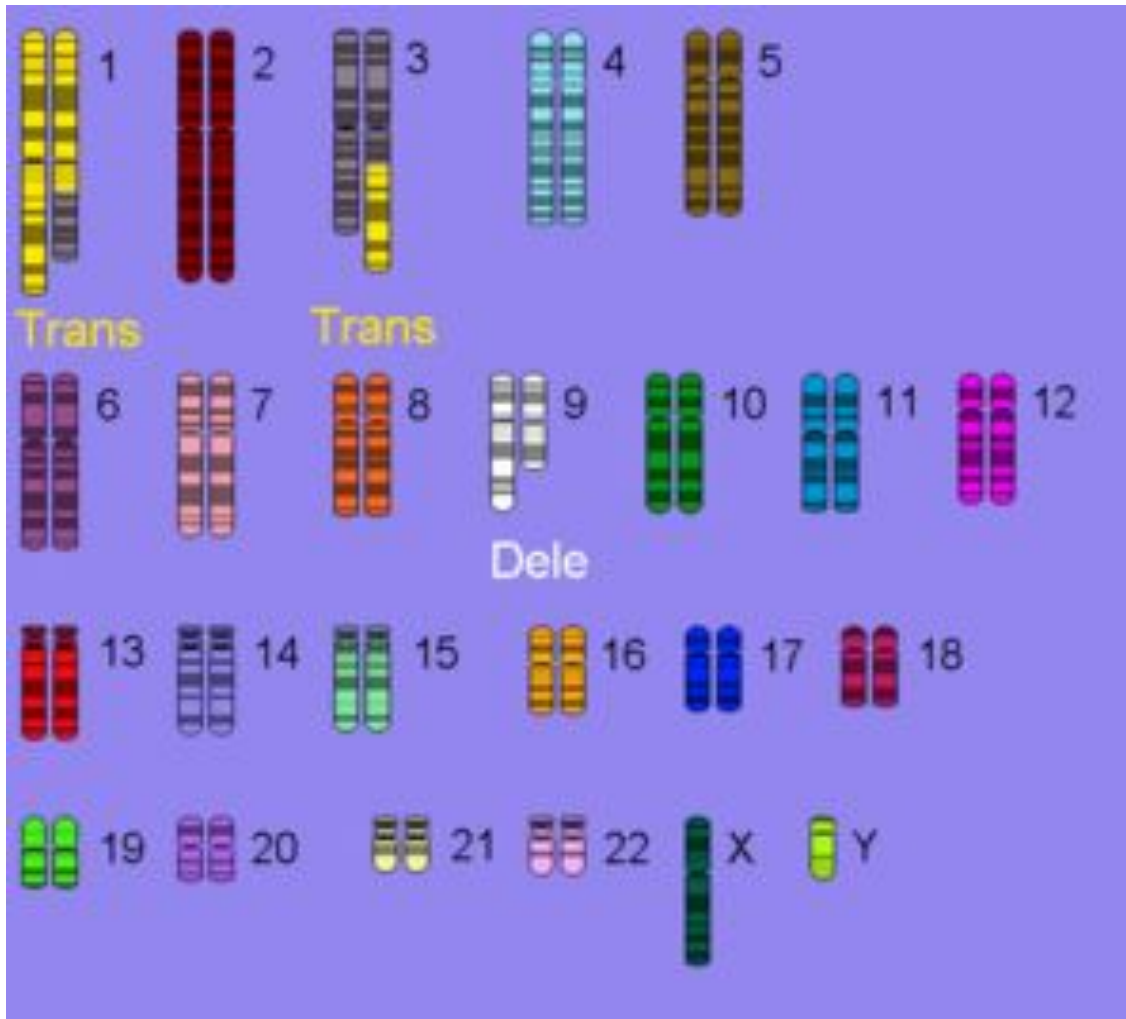
Цитотоксический лимфоцит

Клетка-мишень



Кариотипирование

Выявление хромосомных нарушений (иллюстрации из интернета)



Оборудование лаборатории

Детектирующий амплификатор ДТ-Лайт

Система ПЦР в
режиме реального
(PCR-Real-Time)
времени для
использования в
научных и клиничко-
диагностических
лабораториях.



Амплификатор (термоциклер)

Mj Mini, Био-Рад с программируемым режимом амплификации

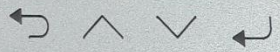




Мерчик

1 ● 2

3 ● 4



DFK - Мерчик



Thermo Scientific NanoDrop™



Микрообъемные
(на 2 микролитра)
спектрофотометры
серии NanoDrop™
предназначены для
измерения
концентрации
ДНК, РНК и белка.

Трансиллюминатор (Gel Doc XR).

Используются для визуализации результатов электрофореза при длине волны 310 нм с помощью программы Quantity One.



Microplate reader (BIO-RAD)

иммуноферментный
анализатор

Микроскоп инвертированный Axiovert Vert. A1. Zeiss.



wie-tec.de

Axio Vert.A1 - микроскоп для клинической диагностики, цитологии, гистологии, микробиологии, в биотехнологии, генной инженерии, вирусологии, клеточной биологии, нейробиологии, исследований живых клеточных культур в лабораторной посуде.

Система для микроскопии в проходящем свете EVOS® XL



Усовершенствованная система для визуализации клеток в проходящем свете

Ключевые методики:

колориметрическая

визуализация клеток,

пассирование стволовых

клеток, интервальная

съемка, подсчет клеток,

гематоксилиновая,

эозиновая и

диаминбензиденовая

(DAВ) визуализация

**Лабораторный шейкер ST-3
Elmi термостатируемый**
предназначен для создания
вращательного движения
жидкости и точного
поддержания заданной
температуры в
иммунологических
планшетах.





Sky Line

TEMPERATURE	RPM	TIMER	SHAKER ST-3L
00000	0000	000	⏻
⏮ ⏭	⏮ ⏭	⏮ ⏭	



Sanyo (Panasonic)

CO₂-инкубатор,

170 л,

МСО-19АІС (UV),

воздушная рубашка,

IR, УФ-лампа.

Диапазон температуры,

от +5 до +50С⁰;

Диапазон CO₂, % :

от 0 до 20 ± 0,15;

Шаг регулировки t⁰ -

С — 0,1



Морозильник -86°C ,
вертикальный, 483 л,
MDF-U5386S, Sanyo
Регулируемый
диапазон температур,
от -5° до -86°C ;
дискретность
установки
температур, $\text{C} — 1$;
объем камеры: 483л;



CENTRIFUGE CM-50

MIN

RPM x 1000

8.8

8.8

• G

• RPM



BRAKE

OPEN

START
STOP

ПЦР - БОКС

ДФК - Механика



Участие в научных мероприятиях:

- 18-я международная Пушинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века», 20-26 апреля 2014 г. (г. Москва) – Руденко К.А., Татаркова Е.А.



- *VI съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров (ВОГиС) и ассоциированные генетические симпозиумы, 15-20 июня 2014 г. (г. Ростов-на-Дону) – Шумилов Д.С., Смольков И.В.*



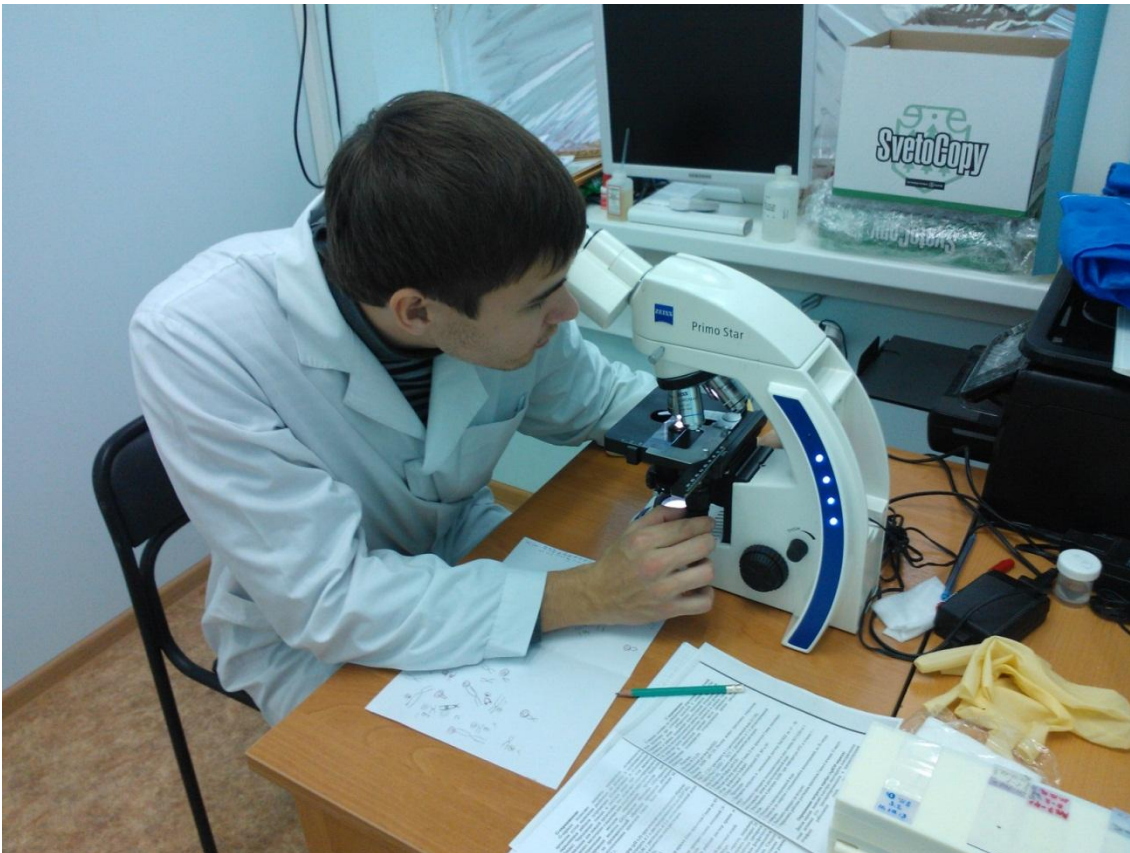
Научные стажировки:

- *Изучение современных методов генотипирования ДНК*, 22-23 апреля 2014 г. (г. Москва, на базе «Агентство-Химэксперт») – Шумилов Д.С., Муженя Д.В.



**• Методы культивирования лимфоцитов
человека и анализа хромосом человека,**

• 5-14 ноября 2014 г. (г. Ростов-на-Дону, на базе ФБГОУ ВПО «ЮФУ») Смольков И.В., Шумилов Д.С.



Очное участие в конференциях

Наименование	Дата и место проведения
VIII Ежегодная конференция студентов и аспирантов базовых кафедр ЮНЦ	2012г. 11-26 апреля г. Ростов-на-Дону
Фестиваль науки недели Юга	2012г. 28-29 ноября г. Ростов-на-Дону
17-я международная Пущинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века»	2013г. 21-26 апреля г. Пущино
X Международная научно-практическая конференция молодых ученых «Наука. Образование. Молодежь»	2013г. 7-8 февраля г. Майкоп
18-я международная Пущинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века».	2014г. 20-26 апреля г. Пущино.
VI съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров (ВОГиС) и ассоциированные генетические симпозиумы	2014г. 15-20 июня г. Ростов-на-Дону
«Механизмы функционирования нервной, эндокринной и висцеральной систем в процессе онтогенеза»	2015г. 8-9 октября г. Майкоп

Работа со студентами и аспирантами

- .Обучение методам исследования и статистической
- .Выбор научного направления
- .Работа с международными базами данных и научной литературой
- .Анализ и обсуждение литературных данных с руководителем
- .Подготовка обзора по теме исследования
- .Определение предмета и объекта исследования
- .Планирование и выполнение экспериментальной части
- .Обработка и обсуждение полученных данных по разделам
- .Подготовка результатов исследования к публикации
- .Завершение экспериментальных исследований
- .Оформление и защита диссертации

Результаты работа с аспирантами

Защита диссертации

21 июня 2013

Муженя Д.В. «Особенности адаптивных возможностей кардиореспираторной системы квалифицированных спортсменов с учетом молекулярно-генетических детерминант».

АГУ, диссертационный совет Д212 001 07 (г. Майкоп)

Специальность - 03.03.01 - физиология

Руководитель: д.б.н. Тугуз А.Р.

Защита диссертации

23 октября 2015

Руденко К.А. «Специфичности HLA DR B1, полиморфизмы генов цитокинов и TLR, ассоциированные с бронхиальной астмой у жителей Республики Адыгея».

НИИ вакцин и сывороток им. И. Мечникова (г. Москва)

Специальность - 14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология.

Руководитель: д.б.н. Тугуз А.Р.

Защита диссертации

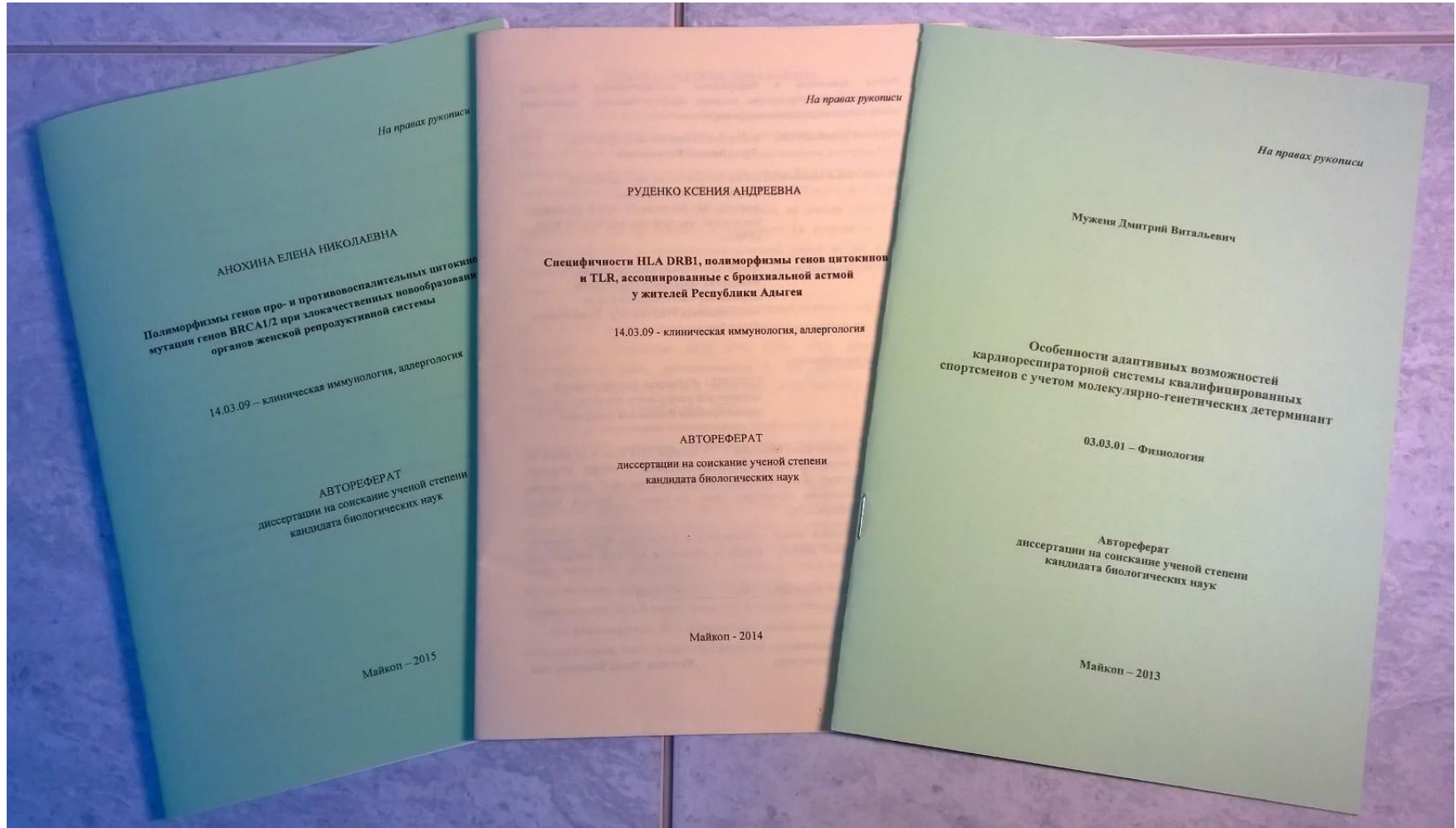
18 июня 2015 г.

Анохина Е.Н. *«Полиморфизмы генов про-, противовоспалительных цитокинов, мутации генов BRCA1/2 при злокачественных новообразованиях органов женской репродуктивной системы».*

НИИ вакцин и сывороток им. И. Мечникова (г. Москва)
Специальность - 14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология.

Руководитель: д.б.н. Тугуз А.Р.

Защита диссертации



Постановка ПЦР

№	Ген	Полиморфизм	Кол-во тест систем	Кол-во образцов ДНК	Затраченное время на постановку (часы)	Затраченное время на подготовку (часы)
1	AGT2R1	A1166C	1	60	8	2
2	JAK2	Val617Phe	1	60	8	2
3	IL-12B	A1188C	1	60	8	2
4	IL-17A	G197A	2	120	16	4
5	ITGB3	Leu33Pro	2	240	24	4
6	ITGA2	C807T	2	240	24	4
7	SELE	Ser128ArGet	2	240	24	4
8	SELP	Thr715Pro	2	240	24	4
9	MTHFR MTHFR MTRR MTR	C677T A1298C A66G A2756G	2	96	46,5	4
Итого:			14	1356	182,5	30



Планируемые защиты диссертационных исследований аспирантами иммуногенетической лаборатории

- Шумилов Д.С. 2017 г. - Молекулярно-генетические предикторы коронарного атеросклероза в этнических группах населения Республики Адыгея. (14.03.09)
- Смольков И.В. 2017г. - Полиморфизмы генов, ассоциированные с периферическим атеросклерозом в этнических группах населения Республики Адыгея. (14.03.09)
- Татаркова Е.А. 2017г. - Иммунологические и молекулярно-генетические предикторы раннего прерывания беременности у жительниц Республики Адыгея. (14.03.09)

Выделение ДНК

№	Метод выделения	Кол-во образцов	Кол-во постановок	Время на 1 постановку	Общее время
1	«Днк - эксперсс кровь» «ЛиТех»	385	20	1,45	29 ч.
2	«Проба ГС-генетика» «ДНК-технология	385	20	4	80 ч.
Итого:					109 ч.

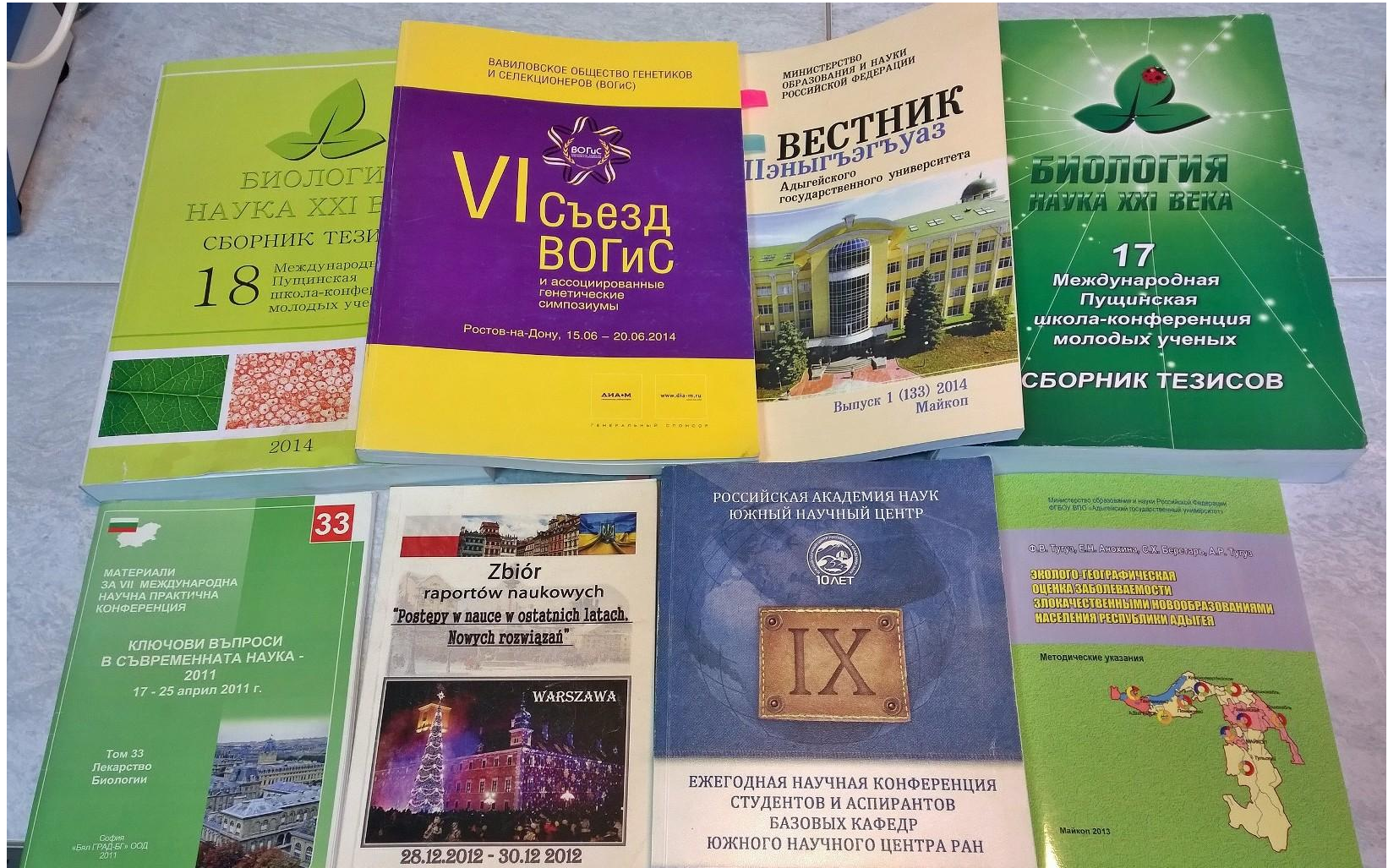
Цитотоксический тест

№	Кол-во образцов	Кол-во постановок	Время на 1-ну постановку	Общее время
1	66	11	24 ч.	264 ч.

Публикации аспирантов

Ф.И.О.	По теме диссертации	Другие публикации	Всего работ
Муженя Д.В.	10	41	51
Руденко К.А.	16	32	48
Анохина Е.Н	11	34	45
Татаркова Е.А.	4	10	14
СМОЛЬКОВ И.В.	5	14	19
Шумилов Д.С.	4	15	19

Публикации 2010-2016 гг.:



Публикационная активность аспирантов 2010-2015 гг.

Статьи в научных журналах – 32

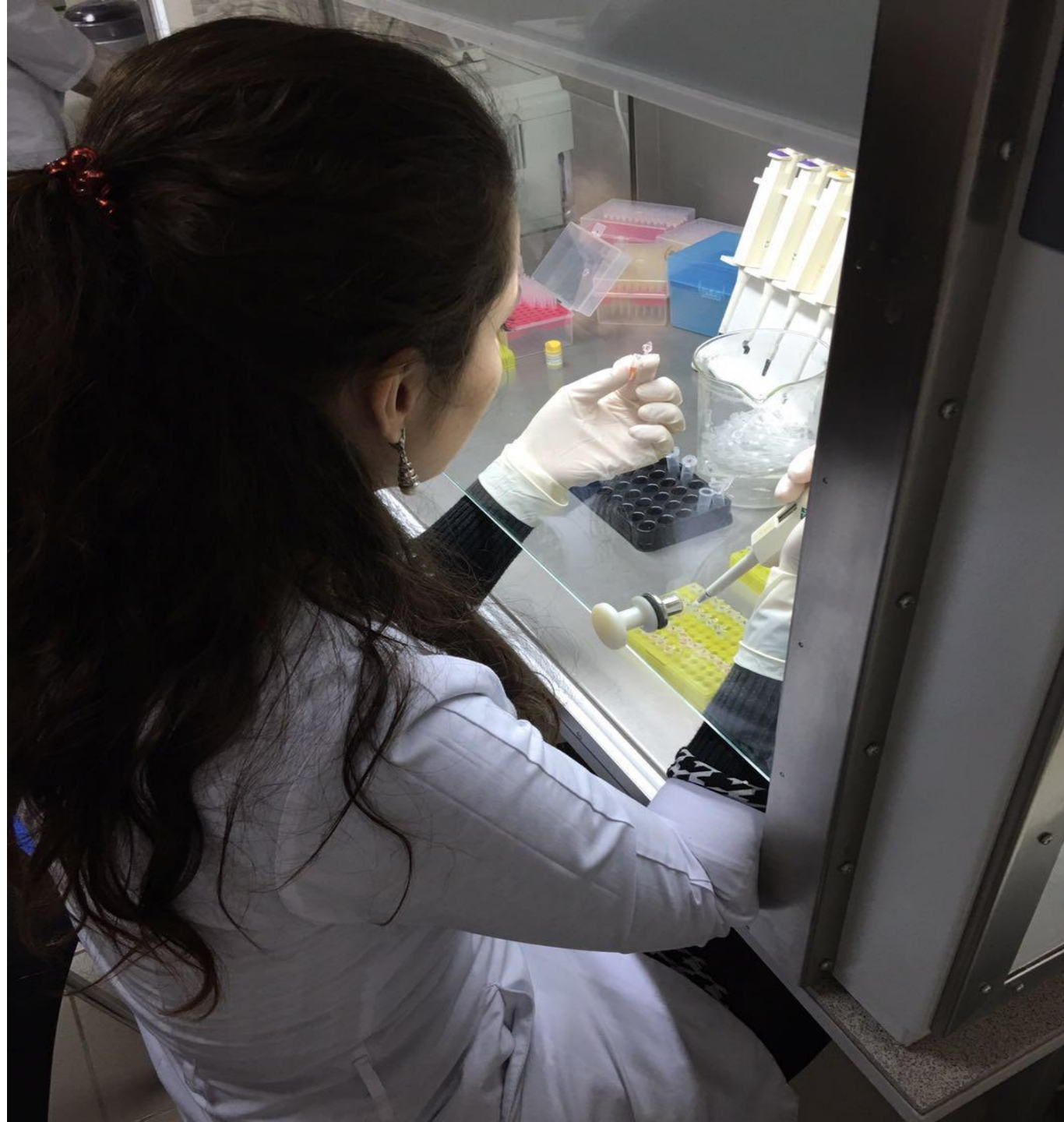
в том числе:

- 1. Scopus - 4;**
- 2. Web of Science – 3:**
- 3. ВАК - 25**

Тезисы и материалы конференций - 23

Работа со студентами

- .Обучение методам исследования и статистики
- .Работа с международными базами данных
- .Анализ и обсуждение литературных данных с руководителем
- .Подготовка обзора по теме исследования
- .Определение предмета и объекта исследования
- .Выбор темы дипломного проекта
- .Планирование и выполнение экспериментальной части
- .Обработка и обсуждение полученных данных по разделам
- .Подготовка результатов исследования к публикации
- .Завершение экспериментальных исследований
- .Оформление и защита дипломной работы



Работа со школьниками

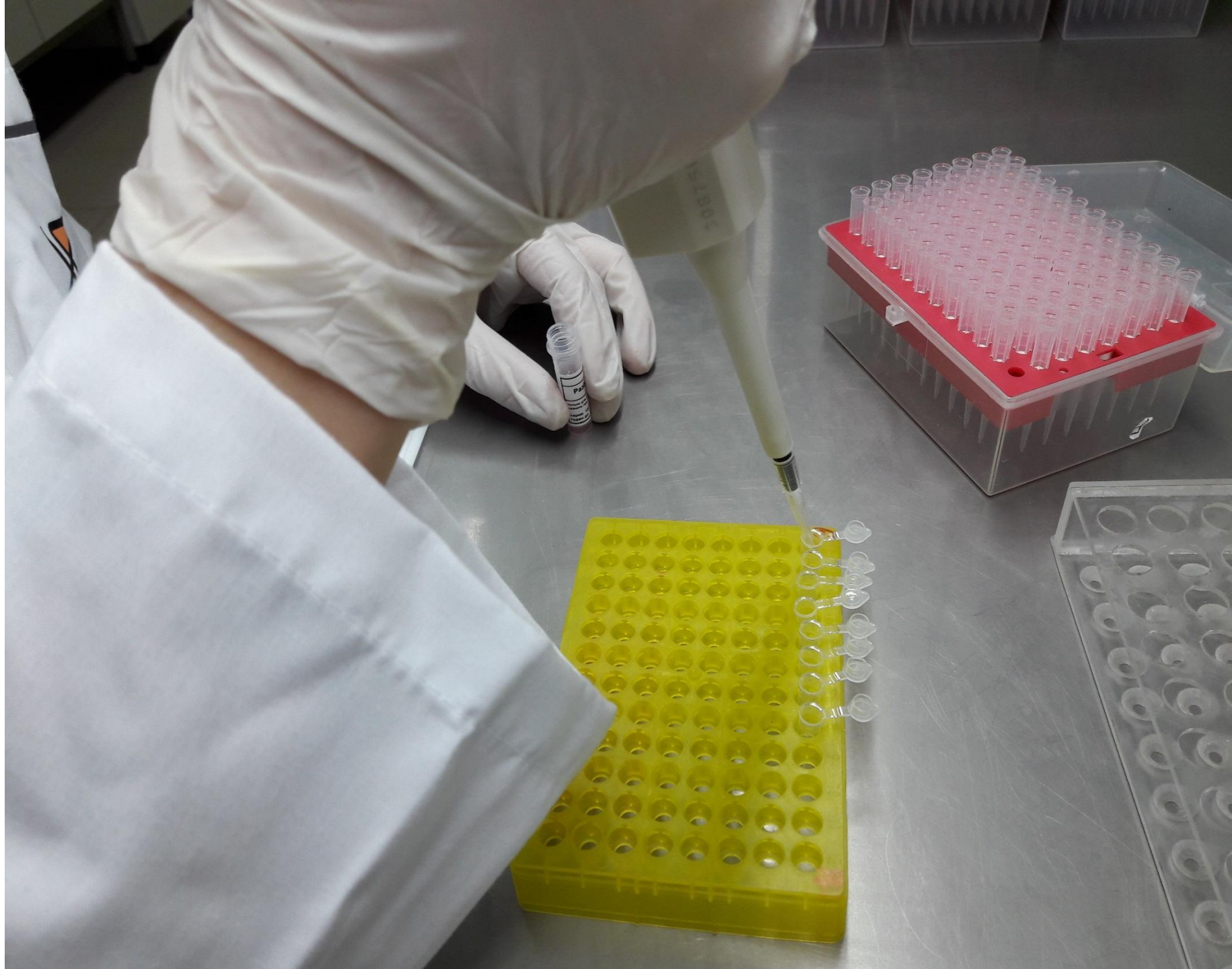
РЕМШ

Работа со школьниками

- .Ознакомление с научным направлением лаборатории
- .Совместные экспериментальные исследования с аспирантами и студентами
- .Обучение методам исследования и статистической обработки результатов
- .Работа с литературными источниками, включая международные базы данных
- .Анализ результатов экспериментальных исследований с аспирантами и студентами
- .Обработка и обсуждение полученных данных
- .Выступление на научной конференции













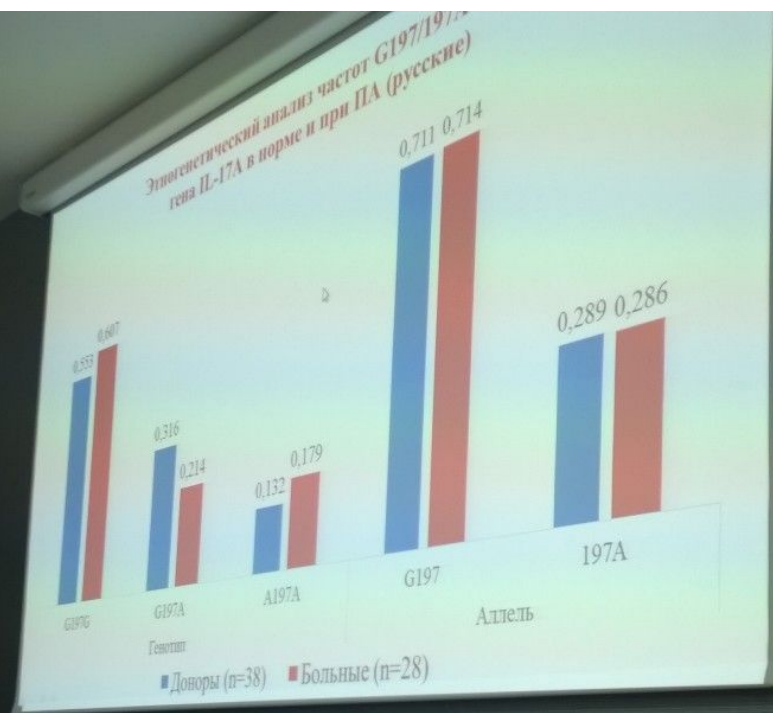




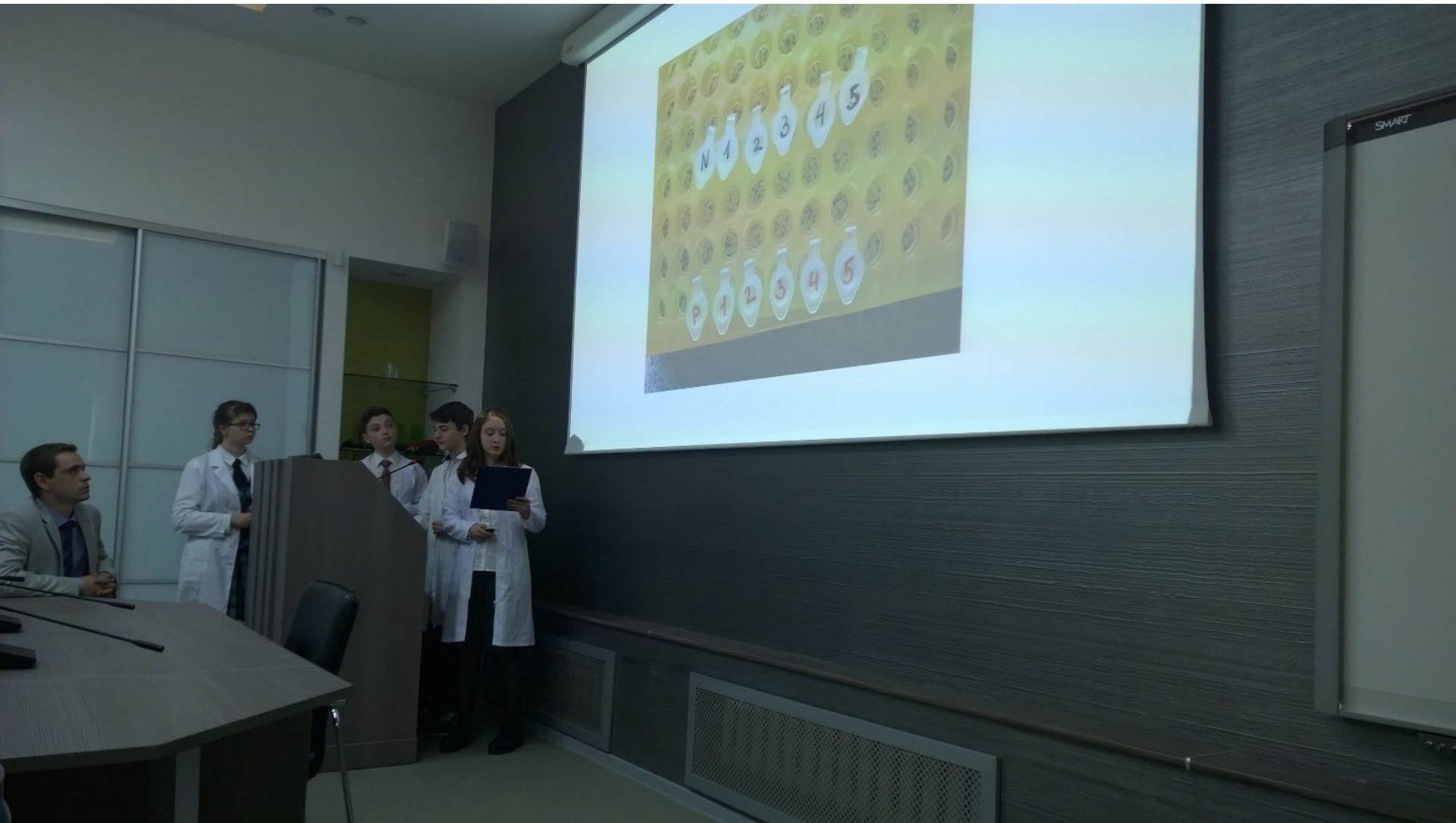


**Время подготовки учащихся РЕМШ – 42 часа
(1,5 месяца)**

**под руководством аспирантов:
Шумилова Д.С., Татарковой Е.А.**



Выступление на научной конференции РЕМШ апрель 2016 г.





Выступление на 56 студенческой научной конференции АГУ апрель 2016

Институт в CRG Барселоне
(<http://www.crg.eu/>)

Школа Молекулярной и Теоретической Биологии (ШМТБ) организована Фондом Дмитрия Зимина «Династия» с 2012 г.

В 2015 г школа поддерживается медицинским институтом имени Говарда Хьюза, Howard Hughes Medical Institute.

Концепция школы молекулярной и теоретической биологии ШМТБ

Концепция школы основана на убеждении, что многие старшеклассники готовы к участию в научных экспериментах – как интеллектуально, так и практически. Опыт работы в научной среде, в настоящих лабораториях будет полезен для тех старшеклассников, которые должны решить, хотят ли они заниматься наукой и подходит ли им этот род деятельности.

Школа даёт шанс поработать над настоящими научными задачами бок о бок с настоящими учёными и — ВОЗМОЖНО — внести вклад в исследования научной лаборатории. По ходу работы школьники слушают лекции, осваивают научные методы, учатся делать расчёты и проверять рабочие гипотезы в различных областях молекулярной и теоретической биологии. Школа не имеет отношения к подготовке к экзаменам и олимпиадам..

Работа и исследования
сконцентрированы исключительно на
процессе научной деятельности и
конкретных научных задачах, которыми
занимаются приглашенные учёные в
своих лабораториях.

- В Пущине прошла 15-ая экологическая научно-практическая конференция школьников Южного Подмосковья «Экополис – город будущего».
- Организаторами мероприятия выступили отдел образования города Пущино и Детско-юношеский центр «Радуга», при непосредственном участии Пущинского научного центра РАН, совета молодых учёных РАН, Окского экологического фонда и Общественной палаты Московской области.
- В конференции участвовали ученики из Пущина, Серпухова, Чехова, Подольска, Ступинского и Ленинского районов, а также из соседних Грызлова, Турова, Липиц. В этом году впервые в конференции принял участие Коломенский район. Темы докладов были самыми разнообразными: «Изучение биологической очистки сточных вод с помощью активного ила», «Биохимическая роль металлов в организме человека», «Влияние синтетических моющих средств на зелёные водные

Спасибо за внимание!!!!