

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ЦЕНТРАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ТУБЕРКУЛЕЗА»
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

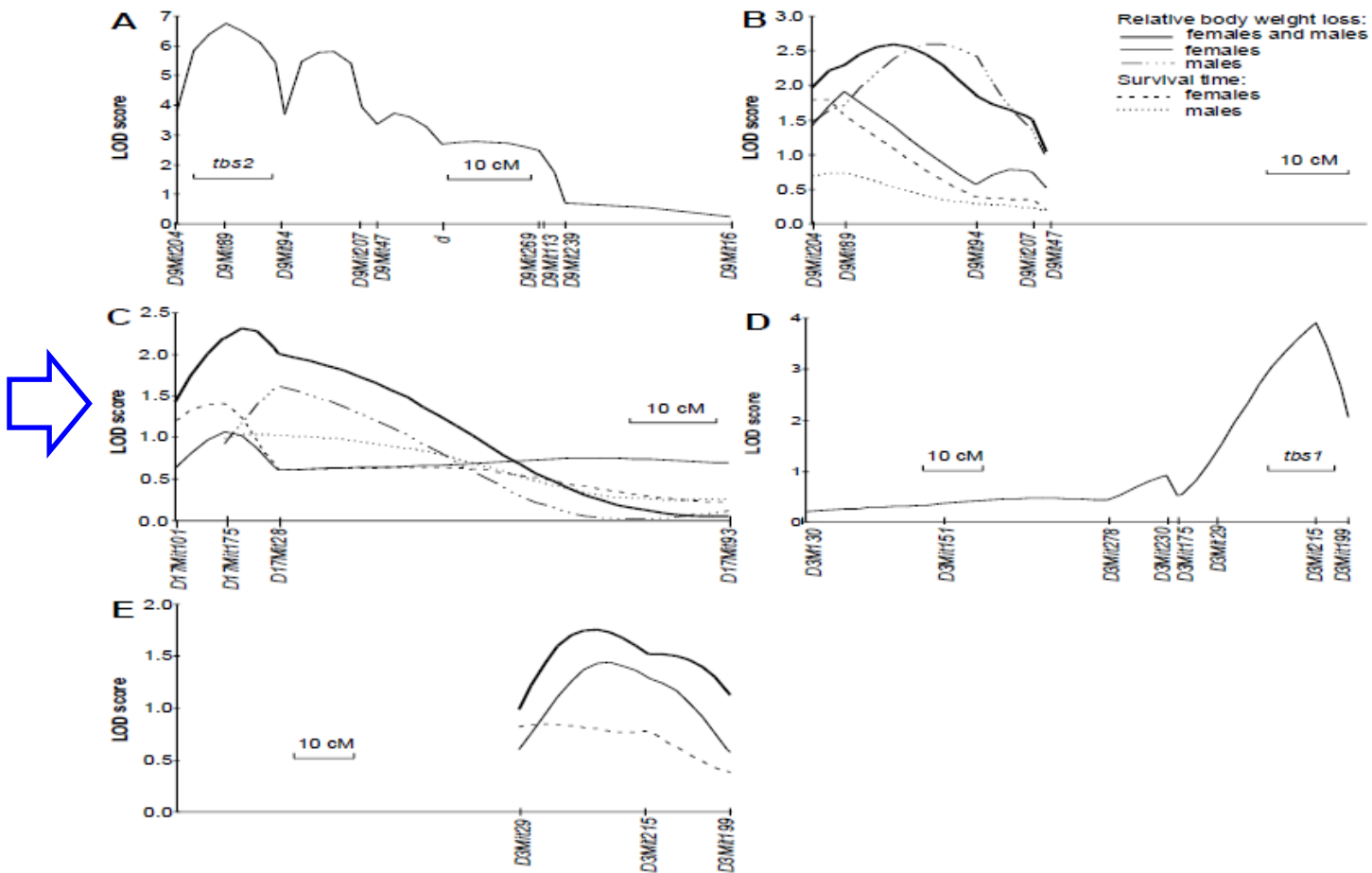
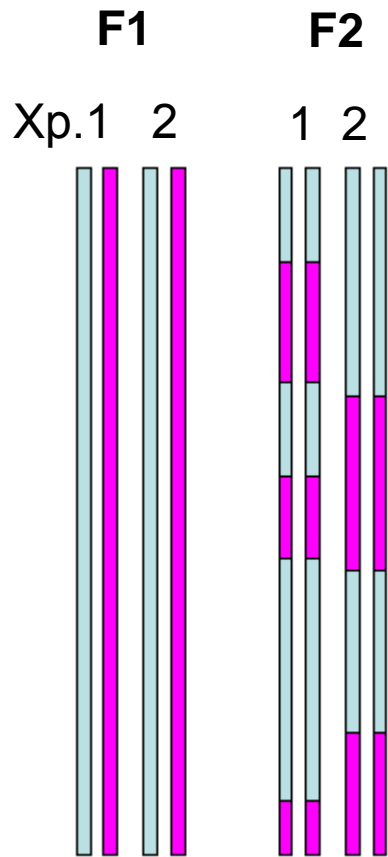
**Тонкое генетическое картирование локусов,
контролирующих уровень восприимчивости и
иммунный ответ мышей к *Mycobacterium
tuberculosis***

Коротецкая М.В.

mkorotetskaya@gmail.com



QTL или локусы количественных признаков, вовлеченные в контроль развития туберкулезной инфекции.



Самцы и самки поколения F2 проверялись по фенотипическим признакам: выживание и потеря веса

Цель исследования : идентификация генов, участвующих в контроле туберкулезной инфекции у мышей с разным уровнем восприимчивости к туберкулезу.

Задачи исследования :

- Подтверждение наличие локуса, ответственного за чувствительность к туберкулезу, на 17 хромосоме в районе H2 комплекса генома мышей.
- Получение новых рекомбинантных линий мышей на основе родительских линий мышей (высокочувствительной I/St и резистентной B6) и с их помощью сузить генетическую область нахождения искомого гена;
- Определить фенотипические изменения (сроки выживания, количество микобактерий в легких , иммунологические различия) рекомбинантных линий в нормальных условиях и при развитии заболевания ТБ;

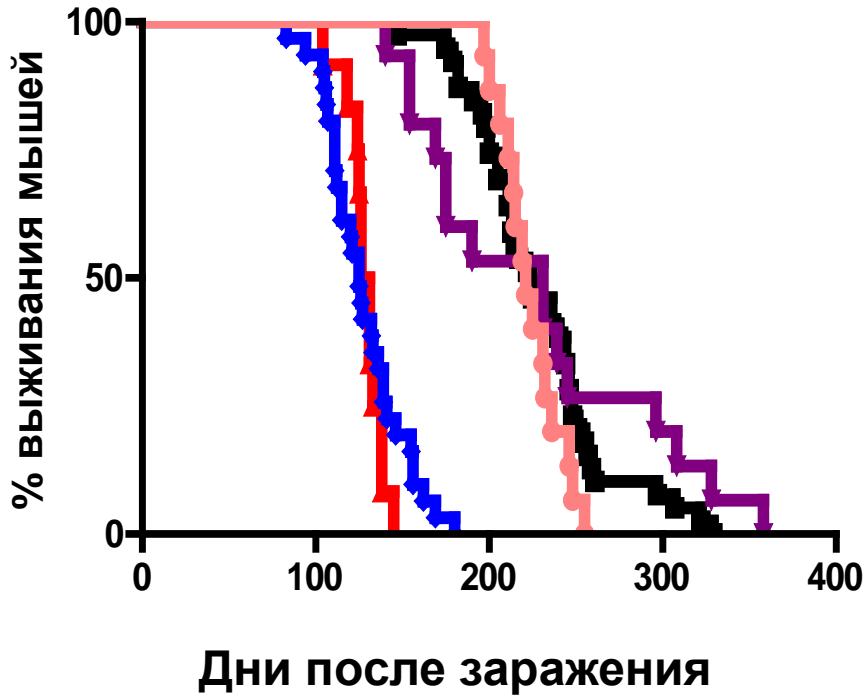
Набор H2 – рекомбинантов

Маркеры	143	57	133	198	81	135	175	147	Dcr4	SNP1	SNP2	28	103	21	22	Ea	13	TNFa	47	234	263	11	52	49	177	87	152	Среднее значение		
Геномная позиция(Мвр)	8.63	10.05	24.99	27.79	31.04		31.979	33.305	33.737	33.910	33.939	34.137	34.32	34.38	34.470	34.479	35.21	35.336	36.35	38.66	41.22		43.6	44.77	48.02	54.88	65.24	выживаемости (дни)	Ч/Р	
Линии мышей																														
I/St																													88+/-5,7	Ч
B6																													226+/-7,4	Р
B6.I-9.5.A																													134+/-8,25	Ч
B6.I-9.3																													131+/-4,68	Ч
B6.I-219																													234+/-18,42	Р
B6.I-249.1.16																													289+/-0,5	Р
B6.I-9.3.19.8																													150+/-13,72	Ч
B6.I-21																													138+/-24,75	Ч
B6.I-9.5.7																													136+/-9,28	Ч
B6.I-249.1.15.46																													136+/-9,28	Ч
B6.I-249.1.15.100																													не определено	?
B6.I-20.15																													257+/-14,19	Р
B6.I-411																													244+/-21,16	Р
B6.I-20.3																													225+/-30	Р
B6.I-107																													240+/-23,13	Р

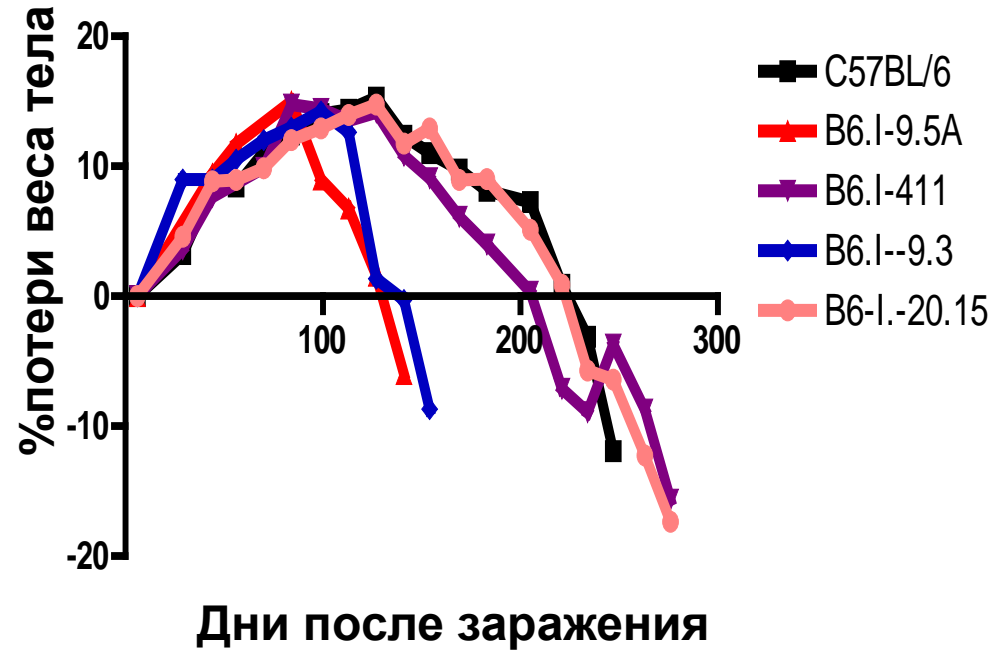
Аллель TNF- α не отвечает за чувствительность к туберкулезу

Сравнение фенотипов B6.I-20.15, B6.I-411, B6.I-9.5A и B6.I-9.3 показывает, что гены контролирующие туберкулез находятся ближе к центру хромосомы чем *tnfa*

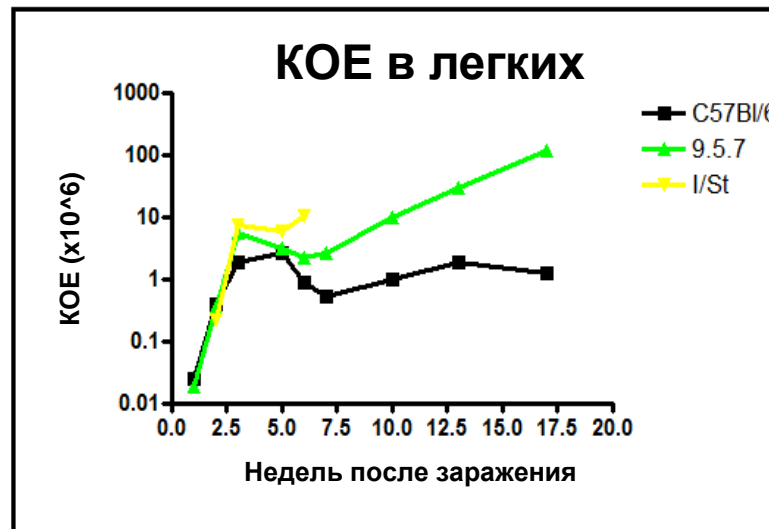
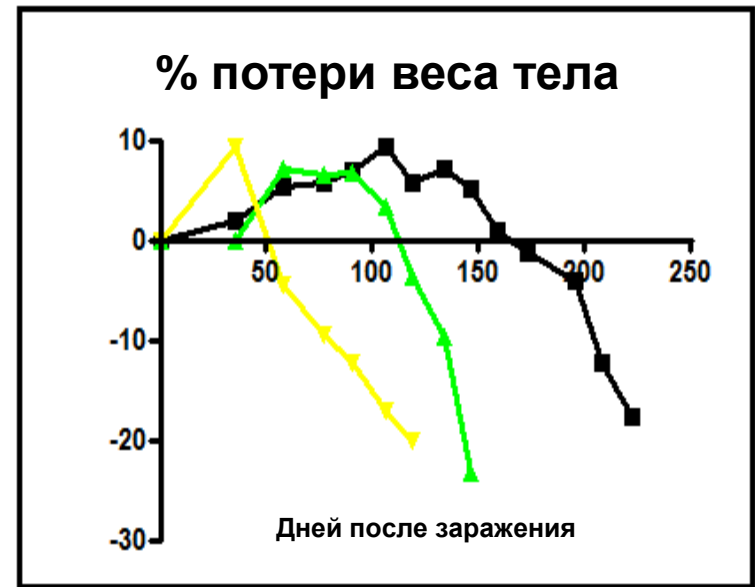
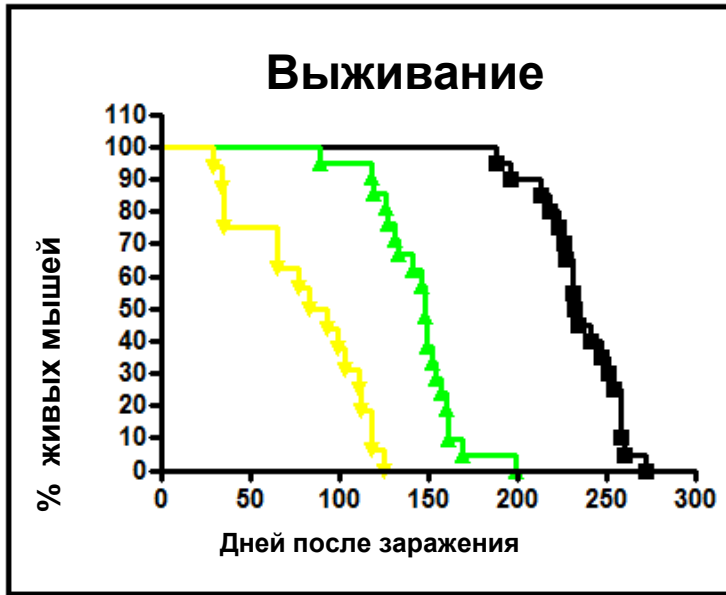
Кривая выживания



Потеря веса



Анализ фенотипа. Выживание, потеря веса и КОЕ.



Линия В6.1-9.5.7 показывает промежуточную чувствительность к туберкулезу

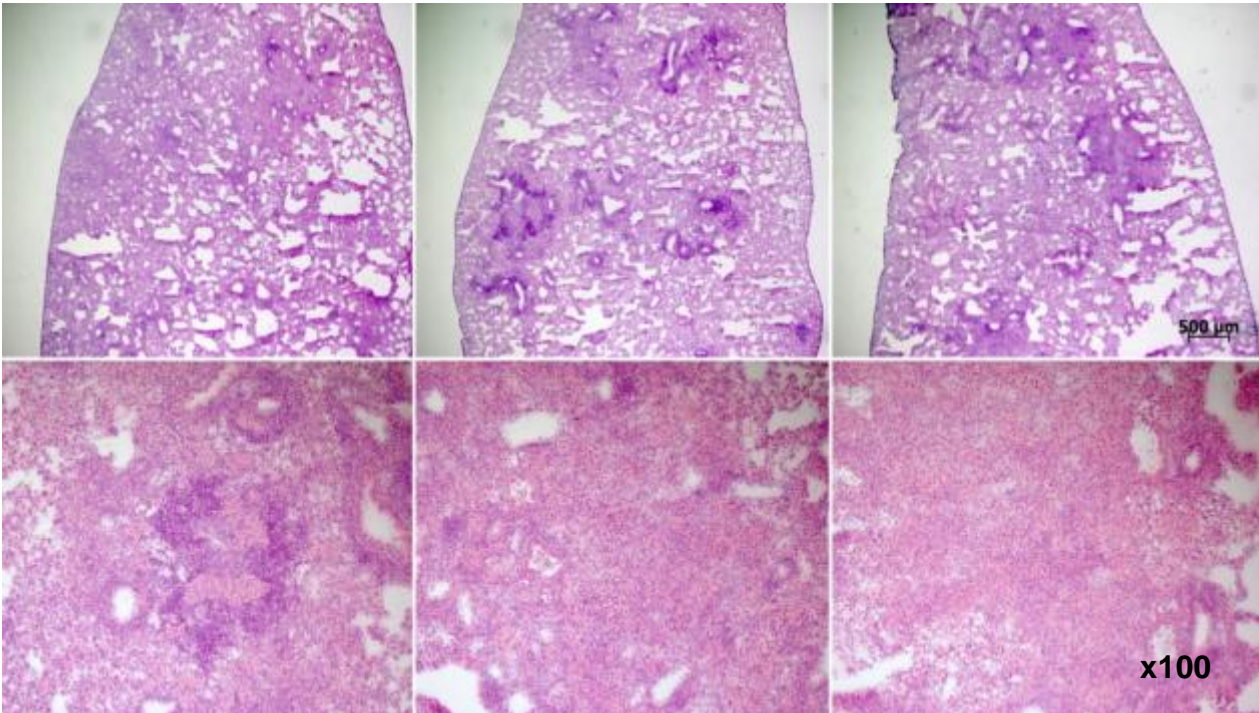
Анализ фенотипа. Патология легочной ткани

B6

B6.I-9.5.7

I/St

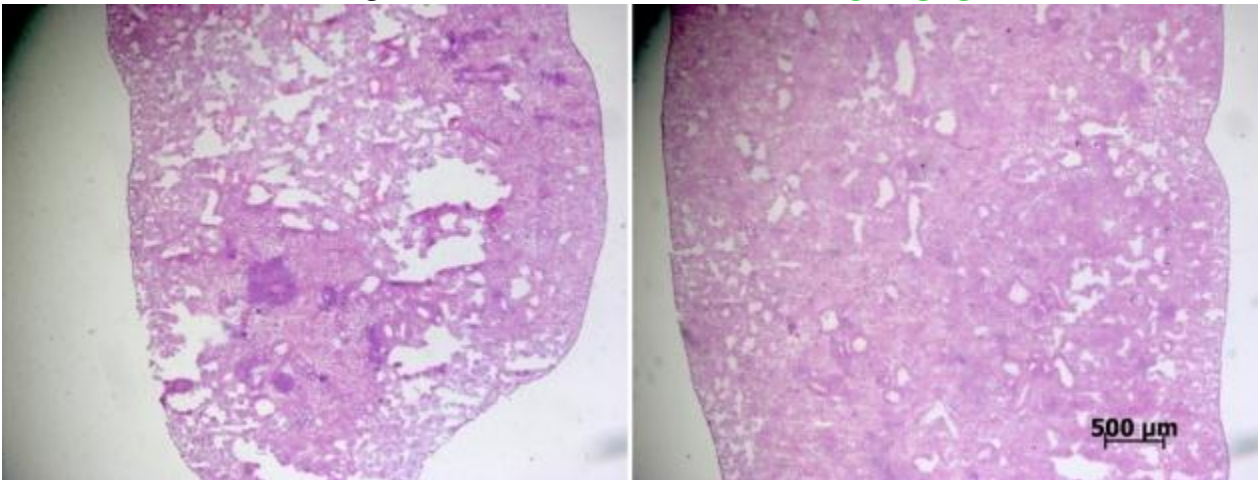
6 недель
после
заражения



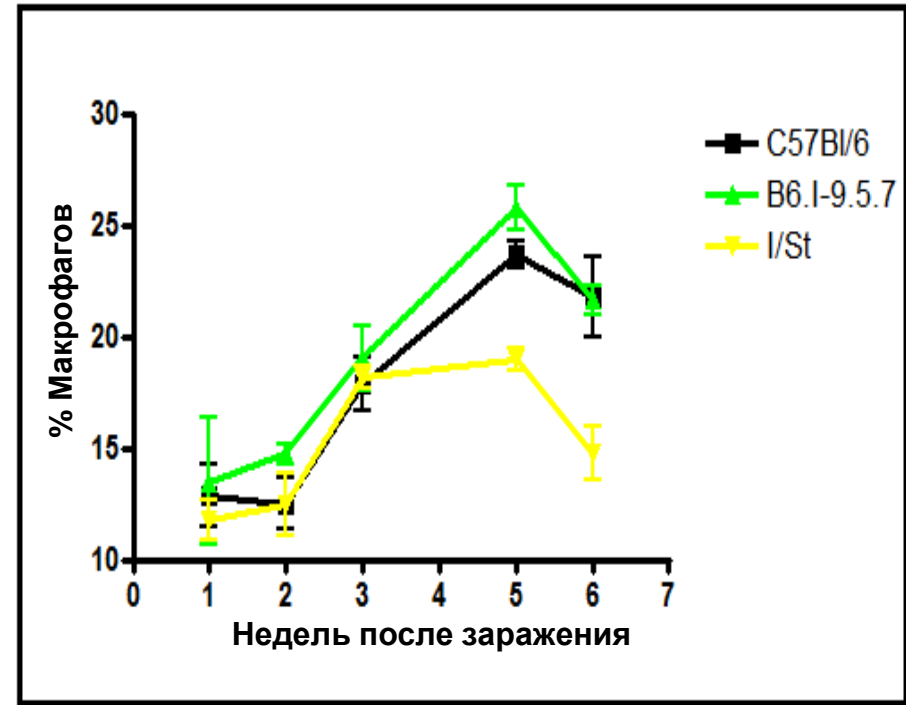
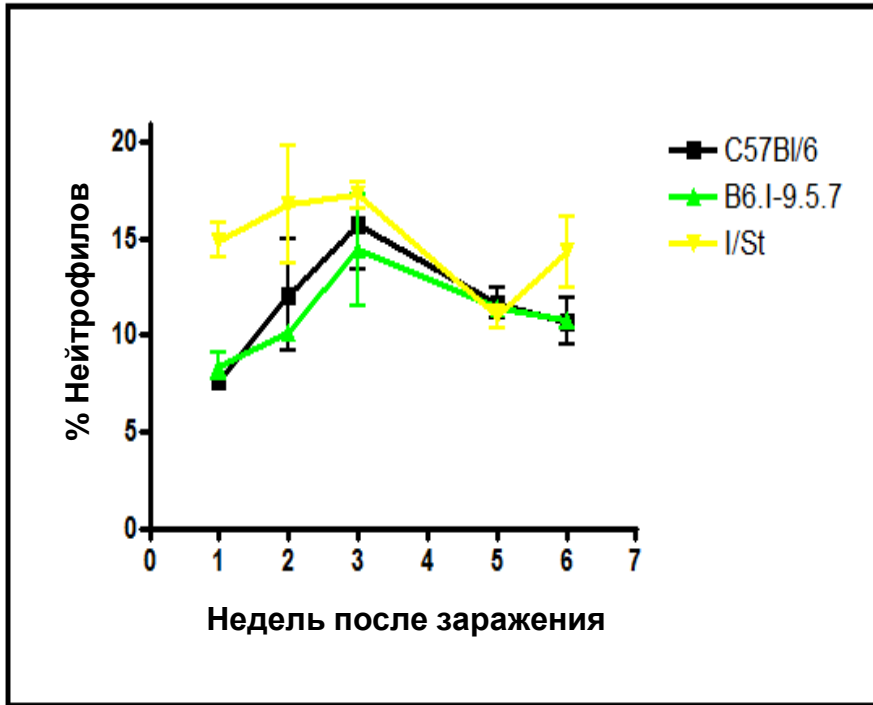
B6

B6.I-9.5.7

17 недель
после
заражения

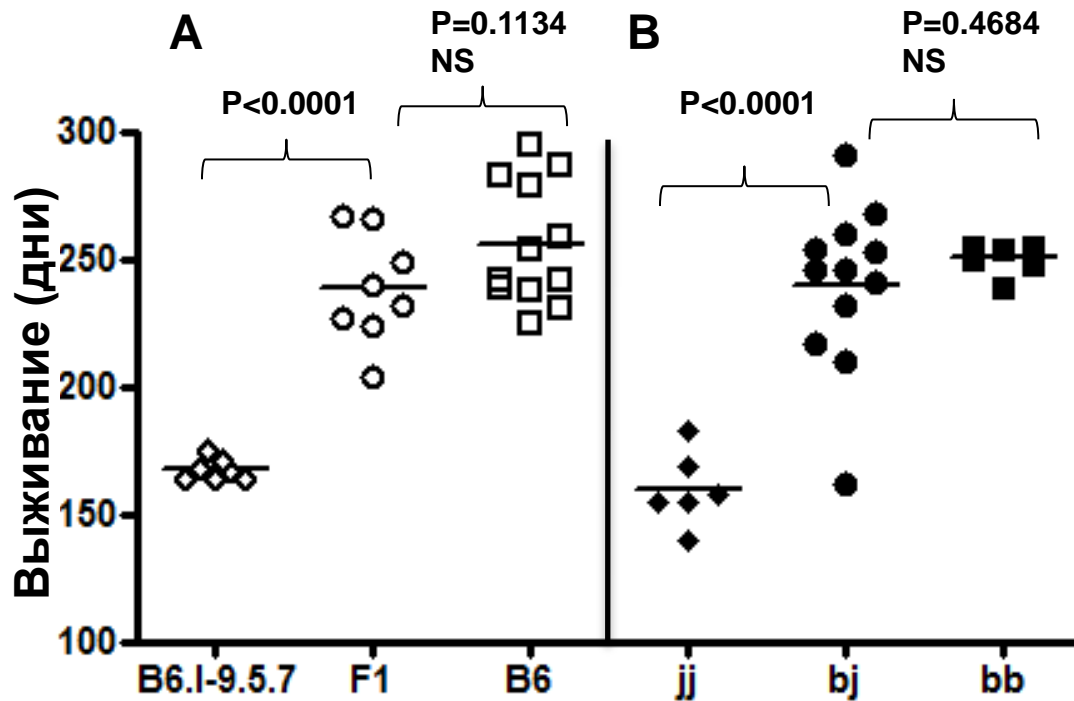


Анализ фенотипа. Динамика прихода фагоцитов в легких разных линий мышей



При туберкулезе продолжительный приток макрофагов к очагу заражения является более эффективной защитой организма, чем быстрый массовый приток нейтрофилов.

Сегрегационный анализ



A – линии мышей : B6 , B6.I-9.5.7 и гибриды F1 (B6x B6.I-9.5.7)

B - потомки гибридов F2 [F1 x F1], объединенные по гаплотипам

jj – гаплотипы мышей линии I/St по H2

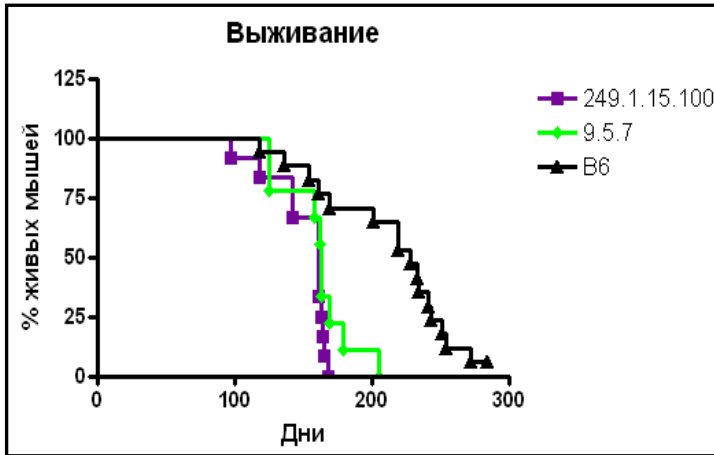
bb – гаплотипы мышей линии B6 по H2

bj- гаплотипы гетерозиготных мышей по H2

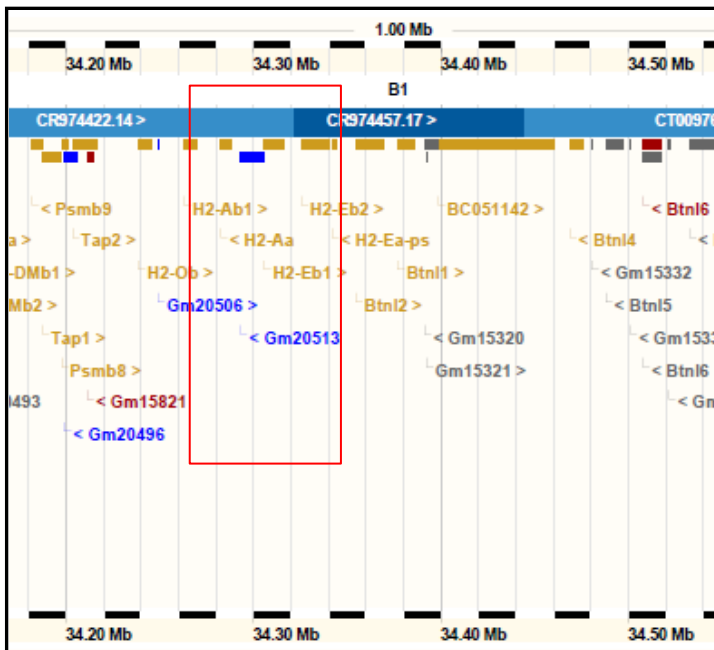
Набор H2 – рекомбинантов

Маркеры	143	57	133	198	81	135	175	147	Dcr4	SNP1	SNP2	28	103	21	22	Ea	13	TNFa	47	234	263	11	52	49	177	87	152	Среднее значение		
Геномная позиция(Мвр)	8.63	10.05	24.99	27.79	31.04		31.979	33.305	33.737	33.910	33.939	34.137	34.32	34.38	34.470	34.479	35.21	35.336	36.35	38.66	41.22		43.6	44.77	48.02	54.88	65.24	выживаемости (дни)	Ч/Р	
Линии мышей																														
I/St																													88+/-5,7	Ч
B6																													226+/-7,4	Р
B6.I-9.5.A																													134+/-8,25	Ч
B6.I-9.3																													131+/-4,68	Ч
B6.I-219																													234+/-18,42	Р
B6.I-249.1.16																													289+/-0,5	Р
B6.I-9.3.19.8																													150+/-13,72	Ч
B6.I-21																													138+/-24,75	Ч
B6.I-9.5.7																													136+/-9,28	Ч
B6.I-249.1.15.46																													136+/-9,28	Ч
B6.I-249.1.15.100																													118	Ч
B6.I-20.15																													257+/-14,19	Р
B6.I-411																													244+/-21,16	Р
B6.I-20.3																													225+/-30	Р
B6.I-107																													240+/-23,13	Р

Характеристика новой рекомбинантной линии B6.I-249.1.15.100



Новая рекомбинантная линия имеет меньшую область физического переноса на основу резистентной линии участка от чувствительной линии, но при этом сохраняется ее чувствительность к туберкулезу.



В области с нашим геном-кандидатом входят следующие молекулы МНС:

H2-Ab1

H2-Aa

H2-Eb1

H2-Eb2

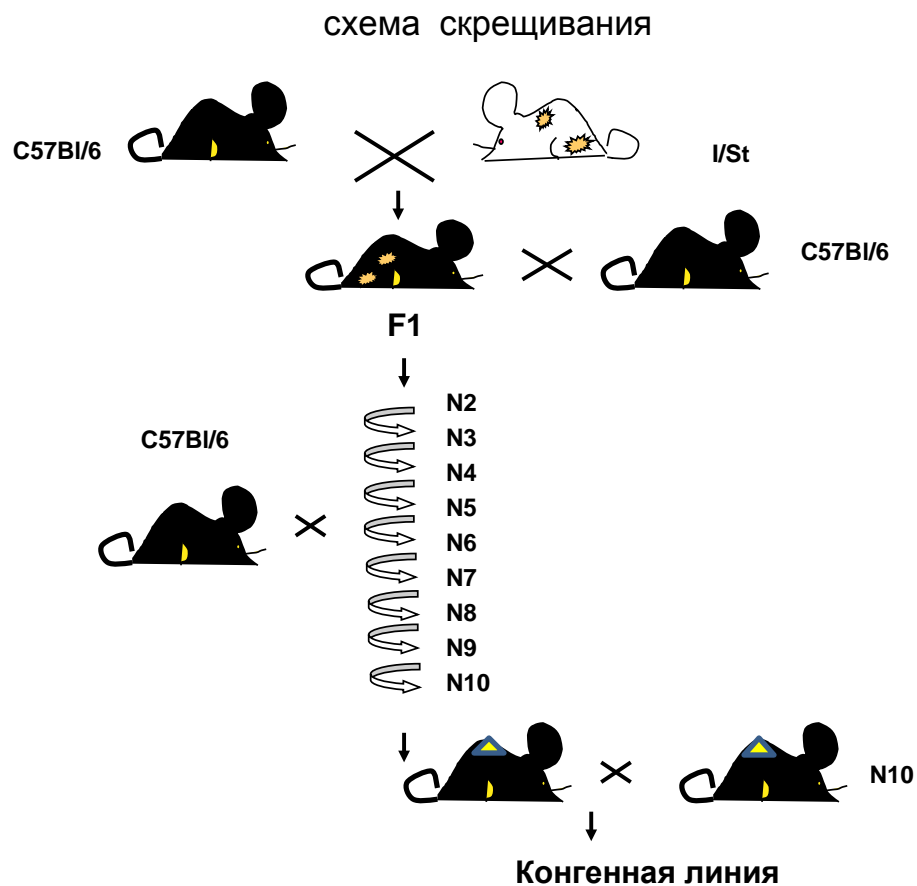
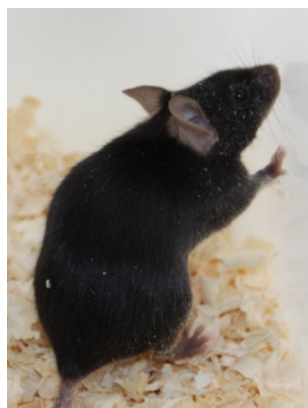
Gm 20513

Все первые 4 гена были нами клонированны, и в каждой из них наблюдается полиморфизм между линиями, поэтому пока нельзя ответить какой конкретно ген отвечает за чувствительность к туберкулезу.

Последний ген относят к предсказанным генам, и существование его белкового или РНК-продукта пока не доказано.

Спасибо за внимание !

Получение рекомбинантных конгенных линий мышей



На всех этапах скрещивания идет типирование потомства с помощью набора маркеров Mit или SNIP для определения четких границ области переноса