

УДК 577.24;57.084.1;57.088.1;57.088.3;577.214.3;575.22;004.9

## **RatDNA: БАЗА ДАННЫХ МИКРОЧИПОВЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА КРЫСАХ ДЛЯ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ СТАРЕНИЯ**

© 2012 г. **О.С. Кожевникова<sup>1</sup>, М.К. Мартыщенко<sup>1</sup>, М.А. Генаев<sup>1</sup>,  
Е.Е. Корболина<sup>1</sup>, Н.А. Муралева<sup>1</sup>, Н.Г. Колосова<sup>1,2</sup>, Ю.Л. Орлов<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики  
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,  
e-mail: oidopova@bionet.nsc.ru;

<sup>2</sup> Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,  
Новосибирск, Россия

Поступила в редакцию 15 июля 2012 г. Принята к публикации 1 августа 2012 г.

Целью создания базы данных является разработка новых экспериментально-технологических подходов для фундаментальных молекулярно-биологических исследований возрастных заболеваний человека на лабораторных животных (крысах) с использованием микрочиповых технологий оценки экспрессии генов. Несмотря на очевидную связь продолжительности жизни с наследственностью и огромное количество биомедицинских исследований процесса старения, сведения о генетических факторах детерминации процессов преждевременного старения крайне ограничены. Было установлено, что характерные для старения структурно-функциональные изменения сетчатки аналогичны тем, что происходят на ранних стадиях ВМД и лежат в основе патогенеза этого заболевания, но не всегда приводят к его развитию. В базе данных RatDNA собрана информация о генах, ассоциированных с заболеваниями старения, в частности ВМД, и экспериментальные данные об их экспрессии в различных тканях модельной линии крыс. База доступна по адресу: <http://pixie.bionet.nsc.ru/ratdna/rat/index.php>.

**Ключевые слова:** заболевания старения, микрочипы, база данных, крысы линии OXYS.

### **ВВЕДЕНИЕ**

#### **ДНК-чипы**

Целью работ был поиск экспериментально-технологических подходов для фундаментальных молекулярно-биологических исследований возрастных заболеваний человека на лабораторных животных (крысах) с использованием микрочиповых технологий оценки экспрессии генов. Кроме комплексного характера общей проблемы изучения заболеваний старения, независимую ценность имеют молекулярно-биологические, технические и биоинформационные методы исследования этой проблемы. Объектом исследования комплексных заболеваний являются молекулярно-генетические системы, координирующие функцию генов, РНК, белков,

генных и метаболических путей на различных иерархических уровнях – клеточном, тканевом, органном, организменном. Основой управления такими системами является регуляция работы генов – их экспрессия, т. е. транскрипция и получение белкового продукта. Измерение экспрессии гена может быть выполнено индивидуально с помощью ПЦР в реальном времени или на микрочипах.

ДНК-чип или ДНК-микрочип (DNA microarray) – это комплексная технология, используемая в молекулярной биологии и медицине (Gibson, 2003). ДНК-микрочип может содержать варьирующее число (от десятков до тысяч) микроскопических точек на пластинке (чипе), соответствующих пробам. Каждая точка содержит несколько пикомолей ДНК специфической последовательности (олигонуклеотида).

Олигонуклеотид может быть коротким участком гена или другого компонента ДНК и используется для гибридизации с кДНК (кодирующей ДНК) или мРНК (матричной РНК). В основе технологии ДНК-чипов лежит использование комплементарного связывания нуклеотидов (Katagiri, Glazebrook, 2009).

В целом ДНК-чипы представляют собой уникальный аналитический инструмент, позволяющий определять наличие в анализируемом образце заданных последовательностей ДНК (так называемый гибридизационный анализ). Проведение анализа с помощью ДНК-чипов обходится в несколько раз дешевле, чем при использовании других технологий анализа экспрессии генов (электрофорез, ПЦР в реальном времени), и допускает работу вне лаборатории (Katagiri, Glazebrook, 2009).

### Проблемы заболеваний старения

В условиях глобального постарения населения планеты первостепенное значение приобретает поиск путей замедления процессов старения, снижения риска возникновения возрастных заболеваний и увеличения продолжительности жизни. В России на фоне низкой продолжительности жизни имеет место преждевременное старение населения, которое проявляется «омоложением» возрастных заболеваний. В мире ведется огромное количество биомедицинских исследований, направленных на изучение процесса старения во всех возможных проявлениях. Несмотря на очевидную связь продолжительности жизни с наследственностью, сведения о генетических факторах детерминации процессов преждевременного старения крайне ограничены. Очевидно, что выяснение механизмов преждевременного старения, разработка подходов к раннему выявлению его генетически детерминированных предпосылок необходимы для создания эффективных способов профилактики и лечения, обеспечивающих существенное продление периода здоровой жизни человека.

Люди не умирают от «здорового» старения: в любом возрасте причиной их смерти становятся патологии, вероятность развития которых увеличивается с возрастом. Это рак, атеросклероз, гипертония, инсульты, сердечная

недостаточность, остеопороз, диабет типа I, нейродегенеративные заболевания и др. Их развитие в более раннем возрасте рассматривается как проявление ускоренного старения, а более позднее становится основой успешного старения – долголетия (Blagosklonny, 2010; Vaupel, 2010). Исследования, цель которых – управление процессами старения, сосредоточены на выяснении молекулярно-генетических основ, с одной стороны, долгожительства (Christensen *et al.*, 2009), с другой – преждевременного старения (Maier, Westendorp, 2009). Несомненную актуальность имеет поиск путей выявления предпосылок развития и способов диагностики заболеваний старения уже в молодом возрасте (Sander *et al.*, 2008).

Множественность проявлений старения не позволяет четко отделять его причины от эффектов, определять темпы и давать прогноз развития заболеваний. Это связано с тем, что структурно-функциональные изменения на организменном, клеточном и субклеточном уровнях при старении аналогичны изменениям, происходящим на ранних стадиях возрастных заболеваний, лежат в основе, но не всегда приводят к их развитию (Ehrlich *et al.*, 2009). Механизмы, запускающие переход обычных возрастных изменений в патологический процесс и лежащие в основе развития большинства ассоциированных со старением заболеваний, до настоящего времени не известны. В значительной степени это обусловлено невозможностью проведения исследований на ранних стадиях заболеваний, которые протекают у людей бессимптомно.

### Возрастная макулярная дегенерация

Одно из распространенных заболеваний старения – возрастная макулярная дегенерация (ВМД) – становится основной причиной нарушения и потери зрения у людей старше 50 лет в развитых странах. Количество больных ВМД растет на фоне увеличения продолжительности жизни людей. В России по разным данным ВМД страдают от 14 до 46 % населения в возрасте старше 65 лет (Либман, 2006). Катаракта – одно из самых распространенных заболеваний глаза, но в развитых странах она не становится причиной слепоты. При этом около 60 % всех офтальмологических операций проводятся по

поводу различных форм помутнения хрусталика. На оперативное лечение катаракты в США тратится 12 % средств, затрачиваемых на здравоохранение. Подсчитано, что задержка развития катаракты на 10 лет уменьшает потребность в операции вдвое.

Накапливаются данные, свидетельствующие о том, что характерные для старения структурно-функциональные изменения сетчатки аналогичны тем, что происходят на ранних стадиях ВМД и лежат в основе патогенеза этого заболевания, но не всегда приводят к его развитию (Smith, Steinle, 2007). Как одно из неизбежных проявлений старения, нередко сопровождающих течение ВМД, многими исследователями рассматривается катаракта (Yoshida *et al.*, 2002). Значительное количество вовлеченных генов и симптомы, характерные и для других комплексных заболеваний, усложняют диагностику ВМД.

#### **Использование модели лабораторных животных для анализа функций генов, связанных со старением**

Создание моделей возрастных заболеваний затруднено, поскольку они развиваются у людей зачастую одновременно на фоне комплексных проявлений старения, возраст манифестации которых, как и «набор» самих заболеваний, существенно различаются. В мире по-прежнему остается одна общепризнанная модель преждевременного старения: созданная японскими учеными линия мышей SAM (senescence accelerated mouse), которая представлена сегодня 12 сублиниями, различающимися проявлениями старения и характерными для него заболеваниями (Takeda, 2009). Потребность в моделях преждевременного старения с комплексной манифестацией его признаков растет. В этом убеждает растущая востребованность мышей SAM: количество выполненных с их использованием работ в последние три года резко возросло. Как показали наши исследования, комплексное проявление признаков преждевременного старения отличает и созданную в ИЦиГ СО РАН линию крыс OXYS. Линия была создана в 70-е годы прошлого века отбором крыс Вистар по признаку ранней спонтанной катаракты. В пяти первых поколениях

развитие катаракты провоцировали нагрузкой галактозой, в дальнейшем проводился отбор по ранней спонтанной катаракте, сцеплено с которой животные унаследовали синдром преждевременного старения. Помимо катаракты он проявляется снижением максимальной продолжительности жизни и ранним развитием ассоциированных со старением заболеваний: ретинопатии, остеопороза, артериальной гипертензии (Колосова и др., 2003; Bobko *et al.*, 2005; Muraleva *et al.*, 2010), ускоренной инволюцией тимуса (Obukhova *et al.*, 2009) и проявлений преждевременного старения мозга, в том числе нейродегенеративных изменений. Доказано, что линия крыс OXYS соответствует основным критериям модели таких возрастных заболеваний человека, как сенильная катаракта, остеопороз и возрастная макулярная дегенерация (Muraleva *et al.*, 2011; Жданкина и др., 2008; Markovets *et al.*, 2011; Korbolina *et al.*, 2012). Проявления этих заболеваний у крыс OXYS воспроизводятся на клиническом и морфологическом уровнях, они отвечают на стандартную терапию.

Фенотипическим проявлениям катаракты и ВМД предшествуют изменения экспрессии генов, однако вклад изменений транскриптома в процесс нормального физиологического старения и тем более в развитие этих заболеваний, особенно на ранних стадиях, остается не ясным в силу сложности проведения таких исследований на людях. Существуют единичные работы, авторы которых исследовали изменения профиля экспрессии генов в сетчатке при развитии ВМД (Booij *et al.*, 2009; Kurji *et al.*, 2010). Большинство исследователей работает с культурами различных клеток сетчатки. Это существенно ограничивает возможности интерпретации результатов и переноса их на уровень организма.

Исследования транскриптома проводятся и на моделях ВМД – на животных, развитие ретинопатии у которых вызывают, как правило, воздействием различных физических факторов (УФ- или лазерным излучением, гипероксией), которое только частично воспроизводит картину развития ВМД (Ishikawa *et al.*, 2010). Систематическое исследование раннего развития заболевания невозможно на пациентах на доклинических стадиях, что обуславливает необходимость испытаний на лабораторных животных.

### Компьютерные подходы. Портал проекта

Для систематизации информации об экспрессии генов, связанных с ВМД, в рамках работ по технологической платформе «Медицина будущего» в ИЦиГ СО РАН был разработан ДНК-чип для исследований экспрессии генов крыс, созданы база данных экспрессии генов и Web-портал с ассоциированной информацией по данной проблеме.

Портал разработан на PHP, база данных RatDNA – на MySQL. Сервер MySQL управляет доступом к данным, позволяя работать с ними одновременно нескольким пользователям, обеспечивает быстрый доступ к данным (Веллинг, Томсон, 2008). Разработанные базы данных (БД), функциональное описание генов и информация о проекте в целом доступны по адресу <http://pixie.bionet.nsc.ru/ratdna/rat/index.php>.

Стартовой страницей портала является страница с информацией по проекту исследо-

вания заболеваний старения на лабораторных животных – <http://pixie.bionet.nsc.ru/ratdna/index.php>. С главной страницы можно совершить переход в соответствующие разделы: «Общая информация о проекте», «Этапы», «Результаты», «Литературные источники», «Рабочий сайт проекта» (рис. 1, а, б).

### База данных генов крысы для микрочипа

При переходе в раздел базы данных RatDNA (фрагмент интерфейса представлен на рис. 2) в навигационном меню доступен раздел Help, в котором представлена справочная информация по данной таблице. По таблице можно осуществить поиск, введя название искомого гена в поле поиска. Помимо возможности просмотра и работы с таблицами на сайте, они доступны для загрузки.

Методы поиска генов включали процессинг данных экспрессии генов на микрочипах в



Рис. 1. Структура Web-портала.

а – стартовая страница (верхняя панель), б – переход на вкладку «Результаты» (нижняя панель).

Набор генов крысы, связанных с заболеваниями старения

<Скачать таблицу>

№	Идентификатор RGD_ID	Символ гена	Описание гена	Хромосома	Начало	Конец	ID транскрипта	Ориентация гена в геноме	Число экзонов	
1	68358	Acan	aggrecan	1	134787341	134848992	NM_022190	+	18	CCAACACCTACAAGCA
2	1305051	Aen	apoptosis enhancing nuclease	1	134615998	134625367	NM_001108487	+	4	agtgtactgtgagaatcagctgttgg
3	619885	Ak3	adenylate kinase 3	1	232658879	232684083	NM_013218	-	5	TTTCTAAGACTTCTCT
4	620844	Apbal	amyloid beta (A4) precursor protein-binding, family A, member 1	1	227106828	227309416	NM_031779	+	13	ATAACCACTGGCAGGT/
5	620845	Apba2	amyloid beta (A4) precursor protein-binding, family A, member 2	1	118970882	119156605	NM_031780	+	14	ATGTATAATGATGACCT
6	2122	Apbb1	amyloid beta (A4) precursor protein-binding, family A, member 1 (Fe65)	1	163282918	163299333	NM_080478	-	13	tgtttgaggtggagcaggaggaaactg
7	628763	Aqp11	aquaporin 11	1	154973796	154983962	NM_173105	-	3	TTGTTCTTTTGAGTGAT

Рис. 2. Фрагмент интерфейса. Таблица генов крысы и олигонуклеотидных проб «RatDNA-chip».

тканях сетчатки глаз, опубликованных в литературе. Анализ баз данных и литературных источников и QTL-анализ (Korbolina *et al.*, 2012) позволили установить несколько списков генов, дифференциально экспрессирующихся в сетчатке глаза, которые были использованы при дизайне специализированного ДНК-чипа. Было отобрано 113 генов, подобраны олигонуклеотидные зонды. База данных RatDNA содержит информацию об этом наборе генов микрочипа (рис. 2).

На странице портала представлена таблица RatDNA-AMD (рис. 3). В ней собрана информация по генам крысы, связанным с возрастной макулярной дегенерацией (ВМД, – англ. AMD). По таблице также можно осуществить поиск, введя название искомого гена в поле поиска.

Данные по экспрессии генов в ткани сетчатки глаза крысы, полученные с помощью специализированного микрочипа, разработанного в ИЦиГ СО РАН, находятся на странице «RatDNA-Экспрессия генов».

Объектами в базе данных являются гены крысы, их нуклеотидные последовательности и функциональная аннотация. База данных в целом включает 5 таблиц (рис. 4):

1) таблица генов крысы RatDNA-chip пред-

назначена для описания генов и олигонуклеотидных проб для микрочипа;

2) таблица генов крысы, гомологичных генам человека, связанным с наследственными заболеваниями человека «RatDNA-OMIM», предназначена для исследования ассоциаций заболеваний старения на крысах с аналогичными заболеваниями человека;

3) таблица генов крысы и соответствующих генов человека, ассоциированных с возрастной макулярной дегенерацией, «RatDNA-AMD», построена на основе анализа литературных данных и предназначена для последующего изучения экспрессии генов на ДНК-чипах и полногеномных данных транскриптомного секвенирования;

4) таблица «Группа генов» содержит списки генов, селектированных по дифференциальной экспрессии в тканях крысы, она построена в результате анализа экспериментальных данных микрочипов и является производной для анализа генов онтологий;

5) таблица «Экспрессия» содержит экспериментальные данные, полученные с помощью специализированного ДНК-чипа по генам крысы из таблицы RatDNA-chip.

Связи между таблицами БД RatDNA осуществляются по идентификатору гена крысы.

&lt;Скачать таблицу&gt;

RGD_ID	Название гена	Описание	Хромосома	Начало	Конец	Transcript_ID	Статья	PubMed_ID
1564153	Plekha1	pleckstrin homology domain containing, family A (phosphoinositide binding specific) member 1	1	190187202	190238309		Conley YP, Jakobsdottir J, Mah T, et al. CFH, ELOVL4, PLEKHA1, and LOC387715 genes and susceptibility to age-related maculopathy: AREDS and CHS cohorts and meta-analyses. Hum Mol Genet 2006;15:3206–3218. PubMed: 17000705	PubMed:17000705
2138	Апое	apolipoprotein E, plays a role in plasma lipoprotein transport	1	79003634	79006387		Baird PN, Richardson AJ, Robman LD, Dimitrov PN, Tikellis G, et al. 2006. Apolipoprotein (APOE) gene is associated with progression of age-related macular degeneration (AMD). Hum. Mutant. 27:337–42.	PMID:16453339
3963	Vldlr	very low density lipoprotein receptor, encodes a protein exhibiting protein tyrosine kinase activator activity, very-low-density lipoprotein receptor activity (human ortholog), protein binding (Dab1; mouse ortholog) and other functions (inferred); involve	1	230666736	230697748		Haines JL, Schnetz-Boutaud N. Functional candidate genes in age-related macular degeneration: significant association with VEGF, VLDLR, and LRP6. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2006 Jan;47(1):329-35	PMID:16384981

Рис. 3. Фрагмент интерфейса. База данных генов человека «RatDNA-AMD» (и их гомологов), связанных заболеванием ВМД.

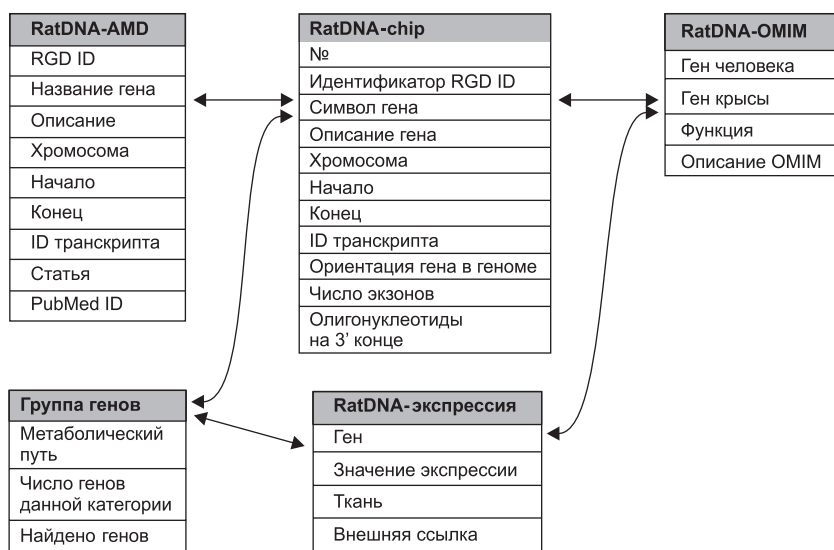


Рис. 4. Структура базы данных RatDNA и связь таблиц.

### Исследование функций генов крысы, представленных в базе данных

Выбор генов, ассоциированных с заболеваниями старения, выполнялся по литературным данным, представленным в базах данных GEO NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gds>) и OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>). При сравнении данных OMIM по генам человека и генам крысы использовалось соответствие идентификаторов (на-

пример, HIF1A у человека и Hif1a у крысы), при этом использовались публикации, содержащие данные по экспрессии генов в тканях крысы, и БД Retinobase (Kalathur *et al.*, 2008).

Для анализа функций выбранных генов, относящихся к заболеваниям старения человека, было выполнено сравнение списка генов крысы с генами человека, описанными в базе данных наследственных заболеваний OMIM. Было выделено 254 категории, относящиеся к старению. По названиям генов было установлено соответ-

Таблица

Соответствие найденных генов крысы и генов человека, связанных с заболеваниями старения и продолжительностью жизни (по базе данных OMIM)

Ген человека	Ген крысы	Функция	Описание OMIM
ARNTL	Arntl	Связан с циркадными ритмами, экспрессируется в ретине у мыши	*602550. ARYL HYDROCARBON RECEPTOR NUCLEAR TRANSLOCATOR-LIKE
BAD	Bad	Регуляция апоптоза – программируемой клеточной смерти	*603167. BCL2 ANTAGONIST OF CELL DEATH
BCL2	Bcl2	Онкоген	+151430. B-CELL CLL/LYMPHOMA 2
COQ7	Coq7	Регуляция базовых метаболических процессов, включая биосинтез, дыхание, продолжительность жизни у <i>C. elegans</i>	*601683. COQ7, S. CEREVISIAE, HOMOLOG OF
HIF1A	Hif1a	Фактор ответа на гипоксии	*603348. HYPOXIA-INDUCIBLE FACTOR 1, ALPHA SUBUNIT
IGF1R	Igfr1	Рецептор ростового фактора	*147370. INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR I RECEPTOR
POLG	Polg	Комплекс транскрипции	*174763. POLYMERASE, DNA, GAMMA
SIRT3	Sirt3	Митохондриальная деацетилаза. Семейство белков-сиртуинов	*604481. SIRTUIN 3
TPH1	Tph1	Триптофан гидроксилаза, биосинтез серотонина	*191060. TRYPTOPHAN HYDROXYLASE 1

стве, найдены гены, связанные с оксидативным стрессом, например Hif1a.

Данные соответствия с OMIM представлены в табл. («RatDNA-OMIM»).

Был проведен анализ функций генов крысы, представленных в таблице RatDNA-chip с помощью категорий генных онтологий. Для проанализированных генов было установлено соответствие 98 идентификаторов геномной аннотации RefSeq. С помощью ресурса анализа генных онтологий PANTHER была выполнена оценка обогащенности данной группы генов категориями, относящимися к метаболическим путям, молекулярным функциям и биологическим процессам. Результаты для метаболических путей также представлены в таблице на странице БД RatDNA.

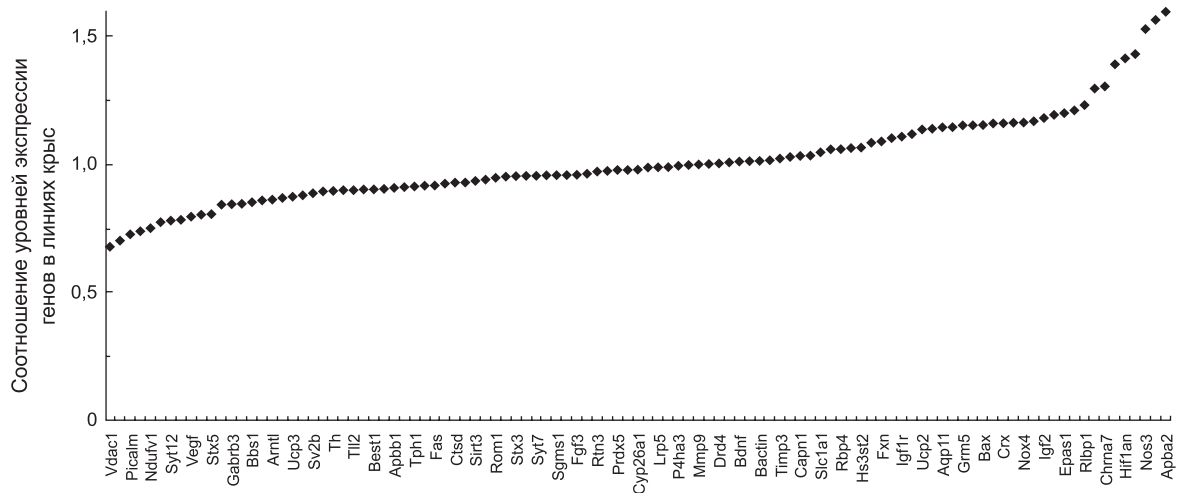
Интересно отметить присутствие категорий, связанных с оксидативным стрессом (Hypoxia response), передачей сигнала FGF (FGF signaling pathway), а также метаболическими путями белков, вовлеченных в болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона, развивающиеся с возрастом. Категории генных онтологий для генов, отобранных по данным экспрессии на

микрочипах в геноме крысы, подтверждают литературные данные об ассоциациях с заболеваниями старения.

Набор генов был протестирован на предмет выявления регуляторных и белок-белковых взаимодействий по базе данных STRING (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins) (<http://string-db.org/>). Было выявлено большое число взаимодействий между белками исследуемой группы, реконструирована генная сеть. Выявлено несколько узлов сети (не менее 4 контактов). Такими узлами являются Bcl2, Vax, Timp3, Nos3, Hif1a, Igfr1, Fgdr2, Epas1, Usp3.

Многие из этих генов человека относятся к генам, связанным с заболеваниями старения, согласно базе данных наследственности человека OMIM. Так, BCL2 (B-cell Cell/Lymphoma 2) – это известный онкоген; HIF1A (Hypoxia-Inducible Factor 1, Alpha subunit) – фактор ответа на гипоксию (**недостаток кислорода**), Igfr1 (Insulin-Like Growth Factor I Receptor) – **ростовой фактор**.

Сравнение экспрессии изучаемых генов на микрочипе для крыс исследуемой линии OXYS и контрольной Вистар (Wistar) показало разли-



**Рис. 5.** Соотношение уровней экспрессии генов OXYS/ Wistar на разработанном чипе.

Ось абсцисс – гены крысы на микрочипе, ось ординат – нормализованное соотношение уровней экспрессии в тканях линий крыс.

чие уровней экспрессии в 1,3–1,4 раза (по 4 репликатам), что является достаточно небольшим диапазоном (рис. 5).

Наименьшие значения соотношения уровней экспрессии в исследуемых группах (понижение уровня экспрессии) имеют гены *Vdac1* (в 0,68 раза), *Cdc3711* (0,7), *Picalm* (0,73); наибольшие соотношения – гены *Nos3* (1,53 раза), *Fgf4* (1,56) и *Arba2* (1,6). Данные этих экспериментальных измерений также представлены в БД RatDNA.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, разработана база данных генов крысы, ассоциированных с заболеваниями старения, и создан веб-портал для продолжения исследований. Записи базы данных содержат экспериментальную информацию об уровнях экспрессии генов на специализированном ДНК-чипе. Разработанная интернет-доступная база данных предназначена для хранения информации о селектированных генах крысы, связанных с заболеваниями старения, их функциональной аннотации, включая олигонуклеотидные пробы для измерения экспрессии генов на микрочипах и экспериментально определенные значения экспрессии этих генов. БД интегрирует геномные данные с функциональной аннотацией генов и их связи с заболеваниями старения, включая возрастную макулярную дегенерацию,

с экспериментальными данными об экспрессии этих генов в тканях лабораторных животных – крыс. Использование ссылочных таблиц на экспериментальные данные, полученные с помощью микрочипов, позволяет соотносить экспрессию генов крысы с их ролью в заболеваниях старения человека и других организмов (модельных животных), дает возможность расширения базы данных на исследования по крысам с помощью других технологий (Shevelev *et al.*, 2012).

Результаты непосредственного измерения содержания белка Аβ (амилоид β) в сетчатке на разных стадиях развития дегенеративных изменений подтверждают выявленную с помощью целевого ДНК-микрочипа общность механизмов патогенеза болезни Альцгеймера и ретинопатии у крыс OXYS и, можно полагать, ВМД у людей. Следует подчеркнуть принципиально важный момент: изменения экспрессии генов пути болезни Альцгеймера выявлены на ранних стадиях развития признаков преждевременного старения и предшествовали усиленному накоплению Аβ в сетчатке и гиппокампе, формированию в них выраженных нейродегенеративных изменений.

Исследовать у людей ранние доклинические стадии заболеваний невозможно, так же, как получать образцы сетчатки и мозга пациентов для масштабных исследований молекулярно-



генетических механизмов патогенеза ВМД и нейродегенеративных изменений мозга. Наши исследования показали, что целевые ДНК-чипы целесообразно создавать для фундаментальных исследований на биологических моделях заболеваний человека, для выяснения их этиологии и патогенеза, поиска новых мишеней для патогенетически обоснованных терапевтических воздействий на них. При этом использование биоинформационных технологий и баз данных при отборе генов-кандидатов для целевых ДНК-чипов существенно повышает эффективность работы (Yang *et al.*, 2011).

### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарны С.И. Татькову, А.А. Швалову, П.С. Деменкову за помощь и научное обсуждение. Работа поддержана госконтрактом Минобрнауки РФ № 16.513.11.3107. Тестирование и установка базы данных проводились с использованием оборудования суперкомпьютерного кластера ССКЦ СО РАН, ЦКП «Биоинформатика» СО РАН.

### ЛИТЕРАТУРА

- Веллинг Л., Томсон Л. Разработка Web-приложений с помощью PHP и MySQL. 3-е изд. М.: Издат. дом «Вильямс», 2008. 880 с.
- Жданкина А.А., Фурсова А.Ж., Логвинов С.В., Колосова Н.Г. Клинико-морфологические особенности хориоретинальной дегенерации у преждевременно стареющих крыс линии OXYS // Бюл. эксперим. биол. и медицины. 2008. V. 146. № 10. P. 435–438.
- Колосова Н., Лебедев П., Фурсова А. и др. Преждевременно стареющие крысы OXYS как модель сенильной катаракты человека // Усп. геронтологии. 2003. T. 12. С. 143–148.
- Либман Е.С., Толмачев Р.А., Шахова Е.В. Эпидемиологическая характеристика инвалидности вследствие основных форм макулопатий // Матер. II Всерос. семинара «Макула-2006» / Под ред. Ю.А. Иванишко, Ростов-на-Дону, 2006. С. 15–22.
- Blagosklonny M.V. Why human lifespan is rapidly increasing: solving «longevity riddle» with «revealed-slow-aging» hypothesis // Aging (Albany NY). 2010. V. 2. No. 4. P. 177–182.
- Bobko A., Sergeeva S., Bagryanskaya E. *et al.* 19F NMR measurements of NO production in hypertensive ISIAH and OXYS rats // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2005. V. 330. No. 2. P. 367–370.
- Booij J.C., van Soest S., Swagemakers S.M. *et al.* Functional annotation of the human retinal pigment epithelium transcriptome // BMC Genomics. 2009. V. 20. No. 10. 164.
- Christensen K., Doblhammer G., Rau R., Vaupel J.W. Ageing populations: the challenges ahead // Lancet. 2009. V. 374. No. 9696. P. 1196–1208.
- Ehrlich R., Kheradiya N.S., Winston *et al.* Age-related ocular vascular changes // Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. 2009. V. 247. No. 5. P. 583–591.
- Gibson G. Microarray analysis: genome-scale hypothesis scanning // PLoS Biol. 2003. V. 1. No. 1. E15.
- Ishikawa K., Yoshida S., Kadota K. *et al.* Gene expression profile of hyperoxic and hypoxic retinas in a mouse model of oxygen-induced retinopathy // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2010. V. 51. No. 8. P. 4307–4319.
- Kalathur R.K., Gagniere N., Berthommier G. *et al.* RETINOBASE: a Web database, data mining and analysis platform for gene expression data on retina // BMC Genomics. 2008. V. 9. 208.
- Katagiri F., Glazebrook J. Pattern discovery in expression profiling data // Curr. Protoc. Mol. Biol. 2009. Chapter 22:Unit 22.5.
- Korbolina E.E., Kozhevnikova O.S., Stefanova N.A., Kolosova N.G. Quantitative trait loci on chromosome 1 for cataract and AMD-like retinopathy in senescence-accelerated OXYS rats // Aging (Albany NY). 2012. V. 4. No. 1. P. 49–59.
- Kurji K.H., Cui J.Z., Lin T. *et al.* Microarray analysis identifies changes in inflammatory gene expression in response to amyloid-beta stimulation of cultured human retinal pigment epithelial cells // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2010. V. 51. No. 2. P. 1151–1163.
- Maier A.B., Westendorp R.G. Relation between replicative senescence of human fibroblasts and life history characteristics // Ageing Res Rev. 2009. V. 8. No. 3. P. 237–243.
- Markovets A.M., Fursova A.Z., Kolosova N.G. Therapeutic action of the mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 on retinopathy in OXYS rats linked with improvement of VEGF and PEDF gene expression // PLoS One. 2011. V. 6. No. 7. e21682.
- Muraleva N.A., Sadovoï M.A., Kolosova N.G. Effect of alendronate on bone tissue status of senescence-accelerated OXYS rats // Adv. Gerontol. 2011. V. 24. No. 1. P. 143–146.
- Muraleva N.A., Sadovoï M.A., Kolosova N.G. Development of osteoporosis in prematurely aging OXYS rats // Adv. Gerontol. 2010. V. 23. No. 2. P. 233–242.
- Obukhova L.A., Skulachev V.P., Kolosova N.G. Mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 inhibits age-dependent involution of the thymus in normal and senescence-prone rats // Aging (Albany NY). 2009. V. 1. No. 4. P. 389–401.
- Sander M., Avlund K., Lauritzen M. *et al.* Aging-from molecules to populations // Mech. Ageing Dev. 2008. V. 129. No. 10. P. 614–623.
- Shevelev O.B., Rykova V.I., Fedoseeva L.A. *et al.* Expression of Ext1, Ext2, and heparanase genes in brain of senescence-accelerated OXYS rats in early ontogenesis and during development of neurodegenerative changes // Biochemistry (Mosc). 2012. V. 77. No. 1. P. 56–61.
- Smith C.P., Steinle J.J. Changes in growth factor expression in normal aging of the rat retina // Exp. Eye Res. 2007. V. 85. No. 6. P. 817–824.
- Takeda T. Senescence-accelerated mouse (SAM) with special references to neurodegeneration models, SAMP8 and

- SAMP10 mice // *Neurochem. Res.* 2009. V. 34. No. 4. P. 639–659.
- Vaupel J.W. Biodemography of human ageing // *Nature*. 2010. V. 464. No. 7288. P. 536–542.
- Yang L., Nie Y.H., Zhou L.H. *et al.* Microarray profiles on age-related genes in the earlier postnatal rat visual cortex // *Chin. Med. J. (Engl)*. 2011. V. 124. No. 10. P. 1545–1550.
- Yoshida S., Yashar B.M., Hiriyanna S., Swaroop A. Microarray analysis of gene expression in the aging human retina // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2002. V. 43. No. 8. P. 2554–2560.

## **RatDNA: DATABASE ON MICROARRAY STUDIES OF RATS BEARING GENES ASSOCIATED WITH AGE-RELATED DISEASES**

**O.S. Kozhevnikova<sup>1</sup>, M.K. Martyschenko<sup>1</sup>, M.A. Genaev<sup>1</sup>, E.E. Korbolina<sup>1</sup>,  
N.A. Muraleva<sup>1</sup>, N.G. Kolosova<sup>1,2</sup>, Y.L. Orlov<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia,  
e-mail: oidopova@bionet.nsc.ru;

<sup>2</sup> Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia

### **Summary**

The purpose of the RatDNA database is the development of experimental methods for basic molecular studies of human age-related diseases in rats involving microarray tests of gene expression. Despite the obvious correlation between life expectancy and heredity and numerous biomedical studies on aging, little is known about genetic factors determining aging processes. People do not die of «healthy» aging: at any age conditions whose probability increases with age become the cause of their death. Age-related macular degeneration (AMD) becomes the main cause of vision problems and sight loss in people aged above 50. Structural and functional changes in the retina characteristic of aging are similar to those observed at early stages of AMD. They underlie the pathogenesis of this disease, but not always lead to its development. RatDNA database contains information on genes associated with age-related diseases, in particular AMD, and experimental data about their expression in tissues of a model rat strain. The database is available at <http://pixie.bionet.nsc.ru/ratdna/rat/index.php>.

**Key words:** age-related diseases, microarray, database, OXYS rats.