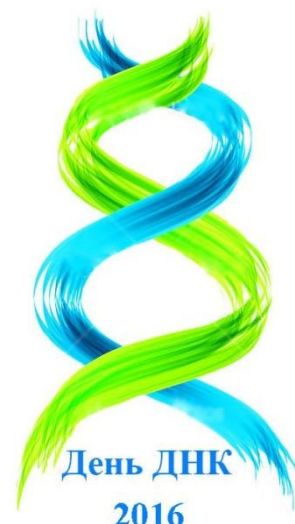

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН
ФГБОУ ВО «БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМ. М. АКМУЛЛЫ»
КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ



БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
им. М. Акмуллы



День ДНК
2016

«День ДНК - 2016»

**Труды
научной конференции
студентов, аспирантов и молодых ученых**

Уфа
25 апреля 2016 г.

УДК 575
ББК 28.04
Т79

*Печатается по решению редакционно-издательского совета
Башкирского государственного педагогического университета им. М.
Акмуллы*

Труды научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых посвященный открытию молекулярной структуры ДНК «День ДНК-2016», 25 апреля. – Уфа: Изд-во БГПУ, 2016. – 122 с.

В сборнике представлены результаты исследований по широкому кругу актуальных вопросов общей генетики, генетики растений, микроорганизмов. Рассчитан на научных работников биологического профиля, аспирантов и студентов соответствующих специальностей.

Ответственный редактор: профессор В.Ю.Горбунова

© Издательство БГПУ, 2016

СОДЕРЖАНИЕ

Аккубекова Г.А., Горбунова В.Ю. ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ЛИПОПРОТЕИНЛИПАЗЫ (LPL) ПРИ ПАТОЛОГИИ БЕРЕМЕННОСТИ	6
Аксаева А.А., Машков О.И., Гарафутдинов Р.Р. РАСШИРЕНИЕ SNP-ПАНЕЛИ ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ШТРИХ-КОДИРОВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА	9
Бурханова У.Р., Воробьева Е.В. ОЦЕНКА ФАКТОРОВ РИСКА АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ	12
Бухарбаева Э.Н., Воробьева Е.В. АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ГЕНОВ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА У ЛЮДЕЙ С РАЗНЫМ ПИЩЕВЫМ ПОВЕДЕНИЕМ	17
Валиахметова Э.Р., Гумерова О.В. АНАЛИЗ ВЗАИМОСВЯЗИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ПЕРЕНОСЧИКА ДОФАМИНА SLC6A3 С ТИПАМИ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ У СТУДЕНТОВ	21
Васильева А. М., Нурушева Л. М., Гильванова Е. А. ПОТЕНЦИАЛ БАКТЕРИЙ РОДОВ <i>HALOMONAS</i> И <i>PSEUDOMONAS</i> В ДЕГРАДАЦИИ СИСТЕМНОГО ГЕРБИЦИДА 2,4-ДИХЛОРФЕНОКСИУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ	27
Вильданова Г.И., Хусаинов А.Ф. ФЛОРА ТЕРРИТОРИЙ ВЫСОКОЭТАЖНЫХ ЗАСТРОЕК Г. БЛАГОВЕЩЕНСКА	31
Габделисламова Д.М., Горбунова В.Ю. ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФНЫХ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА (АСЕ) В ПАТОЛОГИИ РАЗВИТИЯ БЕРЕМЕННОСТИ	36
Габдуллина Э.И., Наумова Л.Г. ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗА ВЛИЯНИЯ ФАКТОРА ВЫТАПТЫВАНИЯ НА ПОПУЛЯЦИИ <i>POLYGONUM AVICULARE L.</i> И СООБЩЕСТВА С ДОМИНИРОВАНИЕМ ЭТОГО ВИДА	42

- Гильмаева А. В., Филиппова Д.С., Абрамов С. Н., Горбунова В. Ю.,
Садыкова Ф.В. 45
**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ
МЕЖСОРТОВЫХ ОТЛИЧИЙ РОДА *CITRUS***
- Гильмаева А. В., Филиппова Д.С., Абрамов С. Н., Горбунова В. Ю.,
Садыкова Ф.В. 49
**МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ *IN VITRO* КАК
МЕТОД СОХРАНЕНИЯ СОРТОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ *CITRUS***
- Губаева Ю.Г., Горбунова В.Ю., Воробьева Е.В. 54
**АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ
ГЕНОВ-ОНКОСУПРЕССОРОВ *RB*, *ING1* ПРИ ОНКОПАТОЛОГИИ**
- Давыдова Ю.Д., Гумерова О.В. 57
**АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ
ТРИПТОФАНГИДРОКСИЛАЗЫ (*TRH*) И РЕЦЕПТОРА СЕРОТОНИНА
2A С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ТРЕВОЖНОСТИ У СТУДЕНТОВ**
- Исрафилова А.Б., Гумерова О.В., Горбунова В.Ю. 63
**ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА
РЕЦЕПТОРА СЕРОТОНИНА *HTR1A* У ЛИЦ С РАЗЛИЧНЫМ
УРОВНЕМ ВЕРБАЛЬНОГО ИНТЕЛЛЕКТА**
- Казакова Т. Ю., Воробьева Е. В. 66
**ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ
РЕПАРАЦИОННОЙ СИСТЕМЫ (*XRCC1*, *OGG1*) ПРИ
ОНКОПАТОЛОГИИ**
- Каюмова Э.И., Наумова Л.Г. 70
**АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ РЕКРЕАЦИОННОГО ФАКТОРА НА ВИДОВОЙ
СОСТАВ СООБЩЕСТВ ШИРОКОЛИСТВЕННОГО ЛЕСА**
- Рустямова Р.С., Васильева Э.М. 75
**ИССЛЕДОВАНИЕ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРОВ
ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ РАКОМ
МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**
- Садыкова Л.Р., Гумерова О.В. 79
**АНАЛИЗ ВКЛАДА МЕЖГЕННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ АЛЛЕЛЕЙ
ГЕНОВ ПЕРЕНОСЧИКА И РЕЦЕПТОРОВ СЕРОТОНИНА В
ФОРМИРОВАНИЕ НЕВЕРБАЛЬНЫХ И ВЕРБАЛЬНЫХ
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНЫХ СПОСОБНОСТЕЙ**
- Саляхова И.Р., Хусаинов А.Ф. 84

АНАЛИЗ ФЛОРЫ КАРТОФЕЛЬНЫХ ОГОРОДОВ СТАРОБАЛТАЧЕВО	с.
Фатыхова Э.А., Горбунова В.Ю. ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ СИСТЕМЫ СВЕРТЫВАНИЯ ПРИ «ЗАМЕРШЕЙ» БЕРЕМЕННОСТИ	89
Филиппова Д.С., Гильмаева А. В., Абрамов С. Н., Горбунова В. Ю., Садыкова Ф.В. ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ СОРТОВ <i>CITRUS MEDICA IN VITRO</i>	92
Чумак М.А., Николаев И.В. Воробьева Е.В. БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МИССЕНС-МУТАЦИЙ ГЕНА CDK4	99
Шихмуратова Ч.Д., Воробьева Е.В. ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФНОГО ВАРИАНТА ГЕНА МЫШЕЧНОЙ ИЗОФОРМЫ КРЕАТИНФОСФОКИНАЗЫ ЧЕЛОВЕКА	103
Юсупова Э.И., Воробьева Е.В. ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ В ГЕНАХ АКТИНИНА И МИОЗИНА ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ СТУДЕНТОВ	106
Яхина И. И., Мулюкова Р. В., Горбунова В. Ю. ГАПЛОТИПНЫЙ АНАЛИЗ ПРИ ДИСЛИПИДЕМИИ	112

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ЛИПОПРОТЕИНЛИПАЗЫ (LPL) ПРИ ПАТОЛОГИИ БЕРЕМЕННОСТИ

Аккубекова Г.А., Горбунова В.Ю.
ФГБОУ ВО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Ключевые слова: Ожирение, патологии беременности, полиморфизм *Hind III*.

Введение: Ожирение - одно из самых социально значимых хронических заболеваний, принявшее масштабы эпидемии (по данным ВОЗ). Постоянно растущие темпы распространения ожирения во всем мире, а также связанная с ожирением повышенная заболеваемость и смертность, сделали его одной из наиболее актуальных проблем современного здравоохранения, причем все большее внимание привлекает ожирение беременных. Несмотря на постоянные усовершенствования системы антенатального наблюдения и родовспоможения, число беременных с ожирением в экономически развитых странах достигает 15,5—26,9% и постоянно увеличивается, в связи с чем актуальность исследования этой проблемы приобретает особую значимость [2].

При ожирении повышается риск различных акушерских осложнений: угрозы невынашивания (32,5%), преждевременных (10,8%) и запоздалых (6,0%) родов, аномалий родовой деятельности (30,1%), родового травматизма (45,7%), а также нарушений функционирования фетоплацентарного комплекса с развитием внутриутробной гипоксии плода (60%) и фетоплацентарной недостаточности (10,8%), макросомии новорожденного (18,1%) [1].

Одним из важных генов, связанных с нарушением липидного обмена и риском метаболического синдрома, является ген, кодирующий липопротеинлипазу (LPL) - ключевой фермент жирового обмена. Липопротеинлипаза (lipoproteinlipase) – гидролаза (сериновый фермент), осуществляющая гидролиз триглицеридов, находящихся в составе хиломикрон (ХМ) и липопротеинов очень низкой плотности (ЛОНП), до моноглицеридов и свободных жирных кислот, регулируя уровень липидов в крови.

Данный ген локализован на коротком плече 8 хромосомы - 8p22. Ген LPL состоит из 35 т.н.п., содержащий 10 экзонов и экспрессирующийся главным образом в скелетной мускулатуре, жировой ткани и сердечной мышце [3].

Цель: Исследование генетической структуры популяции по полиморфному варианту *Hind III* гена липопротеинлипазы (LPL) для выявления групп риска.

Материалы исследования: материалом исследования являлись образцы ДНК, полученные из цельной венозной крови 100 женщин, проживающих на территории Республики Башкортостан.

Образцы крови были предоставлены Республиканским перинатальным центром г. Уфа. Исследования были проведены в лаборатории Центра молекулярно-генетических исследований Башкирского Государственного Педагогического университета им. М. Акмуллы.

У каждого обследованного человека было взято согласие на проведение анкетирования и генетических исследований.

Методы исследования: При исследовании структурно-функциональной роли гена LPL использовались биохимические (выделение ДНК методом фенольно-хлороформной экстракции по Mathew), молекулярно-генетические (ПЦР по Mullis, гель-электрофорез по Маниатису) и статистические методы (закон Харди-Вайнберга, статистический закон расщепления (χ^2), метод 2×2).

Результаты и обсуждение: При изучении полиморфного варианта *Hind III* гена LPL было установлено, что замена нуклеотида Т на G (трансверсия) в +495 позиции 8 интрона этого гена, приводит к образованию сайта рестрикции для фермента *Hind III*.

Наличие сайта рестрикции обусловлено повышением уровня общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ) и понижением уровня липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) сыворотки крови, снижением экспрессии гена LPL, и как следствие, понижением активности самого фермента. Снижение активности уровня фермента является одним из факторов развития ожирения.

Молекулярно-генетический анализ полиморфизма *Hind III* гена LPL показал наличие в выборке из 100 женщин двух аллелей (*Н+ и *Н-) и трех генотипов (Н+Н+, Н+Н-, Н-Н-). В выборке присутствовали женщины, имеющие патологию беременности (замершая беременность, угроза прерывания беременности, плацентарная недостаточность, маловодие) и контрольная группа, состоящая из женщин с нормальным протеканием беременности.

Статистический анализ распределения частот генотипов и аллелей в двух группах, с патологией беременности и контрольной по Харди-Вайнбергу.

Результаты распределения частот генотипов и аллелей полиморфного варианта *Hind III* гена LPL для контрольной группы и группы с патологией беременности представлены в таблице 1.

Таблица 1

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного варианта *Hind III* гена LPL

ДНК-локус	Генотипы/ Аллели	Опытная группа		Контрольная группа		$p(\chi^2)$
		N	p, %	n	p, %	

<i>LPL</i> <i>Hind III</i>	H+N+	29	58	0	0	0,0005 (38,08)
	H+N-	13	26	24	48	0.0385 (4.29)
	H-N-	8	16	26	52	0,0010 (12,88)
	*Н+	71	71	24	24	0,0005 (42,43)
	*Н-	29	29	76	76	

Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта T+495 G выявил статистически значимые различия между исследуемыми группами вследствие повышения частот гомозиготного генотипа H+N+ (58% в группе женщин с патологиями беременности).

Частоты аллелей также отличаются друг от друга, наблюдается повышенные частоты аллеля Н+ (71% в группе женщин с патологиями беременности , 24% в контрольной).

Вывод:при популяционном анализе полиморфизма *Hind III* (+495 T→G) гена *LPL* выявлено, что частота аллеля *Н- и гомозиготного генотипа Н-/Н- высокая в контрольной группе, тогда как, в группе с патологиями беременности достоверно повышена частота мутантного аллеля *Н+ и его генотипа Н+/Н+. Данный факт объясняется повышением риска заболевания ожирением, что неблагоприятно сказывается на беременности.

Использованная литература:

- 1. Калинкина О. Б.** Особенности течения гестоза у женщин с избыточной массой тела и ожирением//О.Б. Калинкина, Н. В. Спиридонова // журнал «Фундаментальные исследования».- 2012. - № 10-2. - с.247-249
- 2. Комшилова К. А.** Беременность и ожирение// К.А. Комшилова, Ф. Х. Дзгоева // журнал «Акушерство и гинекология».- 2009. - №4. - с.21-27
- 3. Каюмова Л.Р.** Анализ возможной роли генетических факторов в определении уровня основных показателей липидного профиля сыворотки крови у жителей Республики Башкортостан//Л.Р. Каюмова, Е.Р. Якшембитова, Е.В. Воробьева, В.Ю. Горбунова// Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2011. - №3

РАСШИРЕНИЕ SNP-ПАНЕЛИ ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ШТРИХ-КОДИРОВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА

Аксаева А.А.

ФГБОУ ВО «БГПУ им. М. Акмуллы» г. Уфа

Машков О.И., Гарафутдинов Р.Р.

ФГБУН «ИБГ УНЦ РАН» г. Уфа

Ключевые слова: ДНК-идентификация, VNTR-локусы, STR-полиморфизмы, однонуклеотидные замены, генетическое штрих – кодирование.

Краткая аннотация. Четыре аутомных двухаллельных SNP-полиморфизма были проверены на предмет включения их в SNP-панель для генетического штрих-кодирования. В дальнейшем с возможностью перевода в более производительный ДНК-чиповый формат.

Введение. Важной социально значимой задачей является идентификация человека по его биологическим материалам, в частности, ДНК. Идентификация личности по полиморфизмам ДНК насчитывает уже почти три десятилетия, первое из которых прошло под знаком так называемых VNTR-локусов (Variable Number of Tandem Repeats), относящихся к условному классу минисателлитных повторов с коровыми мотивами, варьирующими по размеру от 15 до 100 пар нуклеотидов (пн). При этом анализируемые фрагменты ДНК имели размер в диапазоне от 500 до 5000 пн, что абсолютно исключало возможность их точной оцифровки. К тому же необходимо было большое количество ДНК, которое также не всегда удавалось выделить из обнаруженных ДНК-следов. Получаемые электрофоретические картины, получившие название ДНК-фингерпринтов, представляли собой плохо поддающуюся сравнению информацию ввиду невозможности стандартизировать условия проведения эксперимента так, чтобы из раза в раз для одного и того же человека картины полос ДНК были абсолютно идентичными [1].

В начале 90-х гг. прошлого столетия на смену проб к VNTR-локусам пришел анализ STR-локусов (Short Tandem Repeats), отличающихся от первых более короткими, как правило, 2-5 нуклеотидными повторяющимися мотивами. STR-локусы позволяют оперировать с меньшими по размеру фрагментами ДНК (до 400 пн), тем не менее в последние годы наблюдается тенденция использования для ДНК-идентификации личности так называемых miniSTR-локусов, характеризующихся расположением мест отжига праймеров ближе к микросателлитным повторам, что способствует дальнейшему уменьшению размеров ампликонов (до 100-200 пн) и повышению надежности и точности анализов при работе с сильно фрагментированной ДНК [2]. Серьезным недостатком использования STR-

локусов была и остается их сильная зависимость от расовых и национальных особенностей.

На роль маркеров третьего поколения претендуют однонуклеотидные замены (Single-Nucleotide Polymorphism или SNP, читаемый как «снип»). Снипы в зависимости от функциональной нагрузки участка генома встречаются через каждые 100-1000 пн. Это приводит к тому, что люди отличаются друг от друга миллионами однонуклеотидных замен, поэтому снипы могут обеспечить уникальность каждого индивидуума при ДНК-идентификации [3]. Анализ SNP может быть проведен для весьма фрагментированной ДНК, размер обломков может составлять всего около 30-40 пн.

Однако был предложен и альтернативный подход, основанный на принципе генетического штрих-кодирования [4].

Целью работы явилось изучение возможности включения в SNP-панель для генетического штрих-кодирования путем типирования небольшой выборки, состоящей из индивидов разных этнических групп, четырех SNP, два из которых ассоциированы с цветом кожи и глаз.

Материалы и методы исследования. Материалом послужили образцы ДНК, полученные из цельной венозной крови методом фенольно-хлороформной экстракции. В качестве ДНК-маркеров были выбраны 4 двухаллельных снипа: rs1426654 (15 хр., SLC24A5), rs12913832 (15 хр., HERC2), rs3827760 (2 хр., EDAR), rs9809818 (3 хр., FOXP1).

Типирование проводили при помощи полимеразной цепной реакции в 10 мкл реакционной смеси, содержащей 1 мкл буфера (40 мМ Трис-НСl pH 8.0, 2.5 мМ MgCl₂, 25 мМ KCl), 1 мкл ДНК в концентрации 5 нг/мл, 0,5 мкл Taq-ДНК полимеразы, по 1 мкл (конц. 2 ое/мл) каждого из 3-х праймеров. При следующих условиях: денатурация двуцепочечной ДНК в первом цикле велась при 95°C в течение 2 мин, затем следовал отжиг праймеров и их удлинение при температурах от 59 до 72°C (15-20 с), денатурация – 95°C (20 с). Количество циклов – 31.

Результаты ПЦР анализировали в 10%-ном полиакриламидном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием и визуализацией в ультрафиолетовом свете.

Результаты и обсуждения. Из литературных источников известно, что rs12913832 ассоциирован с цветом глаз, а rs1426654 – с цветом кожи, причем коричневый цвет глаз имеют индивиды с генотипом А/А для rs12913832, темный цвет кожи – с генотипом G/G для rs1426654 [5].

В результате типирования оказалось, что индивиды африканского происхождения гомозиготны по всем 4 снипам (G/G, А/А, Т/Т, А/А соответственно), что совпадает с показателями популяционного распределения из базы данных GenBank. В европеоидной группе индивиды имеют генотипы А/А для rs1426654, А/А и А/G для rs12913832. Действительно, по данным литературы аллель А для rs1426654 определяет светлый цвет кожи, а гетерозиготный генотип для rs12913832 – светлый цвет

глаз (голубой или зеленый). В монголоидной группе наблюдаются преимущественно гетерозиготные генотипы для rs1426654, то есть индивиды имеют средний между темным и светлым цвет кожи, а цвет глаз совпадает с негроидной выборкой (для всех индивидов - генотип А/А в rs12913832). Для группы условных «метисов» наблюдается высокая частота гетерозиготности.

Таким образом, генотипирование по изученным SNP показало полное совпадение генотипов с показателями популяционного распределения из базы данных, что позволяет включить их в SNP-панель для генетического штрих-кодирования.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Jeffreys A.J., Wilson V., Thein S.L. Individual specific “fingerprints“ of human DNA // Nature. – 1985. – V. 316. – P. 76-79.
2. Butler J.M., Shen Y., McCord B.R. The development of reduced size STR amplicons as tools for analysis of degraded DNA // J. Forensic Sci. – 2003. – V. 48, № 5. – P. 1054-1064.
3. Budowle B. SNP typing strategies // Forensic Sci. Int. – 2004. – V. 146. (Suppl.). – P. 139-142.
4. Гарафутдинов Р.Р. Новые методы детекции однонуклеотидных замен и общие принципы ДНК-идентификации личности на основе генетического штрих-кодирования. [Текст]: автореф. дис... канд. биол. наук (03.00.03) / Гарафутдинов Равиль Ринатович; МОиН РФ БашГУ. – Уфа, 2006.
5. Mushailov V., Rodriguez A.S., Budimlija M. Z., Prinz M., Wurmbach E. Assay Development and Validation of an 8-SNP Multiplex Test to Predict Eye and Skin Coloration // J Forensic Sciences. 2015.

ОЦЕНКА ФАКТОРОВ РИСКА АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Бурханова У.Р., Воробьева Е.В.

ФГБОУ ВО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Ключевые слова: артериальная гипертензия, факторы риска

Краткая аннотация

Главным фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний с точки зрения причин летальных исходов эксперты признают повышенное артериальное давление (13% общего числа летальных исходов в мире), курение (9%), повышенный уровень глюкозы в крови (6%), низкую физическую активность (6%) и ожирение (5%) [1].

Артериальная гипертензия – стойкое повышение артериального давления выше 140/90 мм.рт.ст. в состоянии физического и эмоционального покоя.

Развитию артериальной гипертензии способствует так называемые факторы риска, наиболее важные из которых:

- курение;
- низкая физическая активность;
- злоупотребление алкоголем;
- отягощенная наследственность;
- ожирение;
- сахарный диабет.

Цель исследования: выявление и анализ факторов риска развития артериальной гипертензии среди сотрудников учреждения финансовой компании.

Задачи:

1. Изучить распространенность факторов риска гипертонической болезни среди сотрудников финансовой компании.
2. Изучить образ жизни, уровень субъективной оценки здоровья сотрудников учреждения финансовой компании.

Методы

В условиях амбулаторно-поликлинического учреждения проведен анализ факторов риска антропометрическим, биохимическим методами и методом анкетирования по данным анкет, паспорта здоровья и биохимического исследования крови.

В исследовании проводились расчет *индекса массы тела (индекс Кетле)*, определяет сколько граммов массы тела должно приходиться на каждый сантиметр длины тела. Индекс Кетле является интегральным ориентировочным показателем оптимальности массы тела, который в наибольшей степени коррелирует с показателем здоровья [2].

Формула для взрослых:

$$\text{ИМТ} = \frac{\text{масса тела (кг)}}{\text{длина}^2 (\text{м}^2)}$$

Таблица 1. Оценка индекса Кетле для взрослых

Количество граммов массы тела, приходящееся на сантиметр длины	Показатель упитанности
>540 (у мужчин) >450 (у женщин)	Ожирение
451-540	Чрезмерная масса тела для мужчин
416-450	Чрезмерная масса тела для женщин
401-415	Хорошая масса тела
400	Наилучшая масса тела для мужчин
390	Наилучшая масса тела для женщин
360-389	Средняя масса тела
320-359	Сниженная масса тела
300-319	Очень низкая масса тела
200-299	Истощение

Измерение артериального давления:

1. За 1 час до измерения давления исключить кофе, крепкий чай, за 30 мин – курение.
2. За 5 мин до измерения надо расслабиться успокоиться.
3. Положение: сидя в удобной позе. Рука неподвижна и находится на столе.
4. Манжету накладывают на плечо на уровне сердца, чтобы ее нижний край располагался на 2 см выше локтевого сгиба.
5. Воздух в манжете нагнетается с помощью груши до значения, на 20 мм.рт.ст. превышающего ваше обычное «верхнее» давление.
6. Давление в манжете следует снижать медленно, со скоростью 2 мм.рт.ст. в секунду, до появления первого тона – это значение соответствует систолическому (верхнему), а полное исчезновение тонов – диастолическому (нижнему) артериальному давлению.
7. Рекомендуется повторно измерить артериальное давление через 1-2 минуты после полного удаления воздуха из манжеты и подсчитать среднее значение двух измерений.
8. В первый раз надо определять давление на обеих руках, а в дальнейшем измерять артериального давления на той руке, где давление было выше.

Биохимический метод определения глюкозы и холестерина

Забор крови вакутайнером из локтевой вены осуществлялся в утренние часы натощак спустя 10-12 часов после приема пищи. Определение концентрации

общего холестерина и глюкозы в сыворотке крови определяли на автоанализаторе.

В норме концентрация глюкозы в цельной капиллярной крови 3,8-5,5ммоль/л (в плазме – 4,2-6,1 ммоль/л).

Это представитель стероидных липидов, не участвующий в процессах энергообразования в организме. В норме содержание холестерина 3,9-5,2 ммоль/л. [4].

Вариационный ряд.

1. Параметры среднее арифметическое \bar{x} – стандарт для сравнения

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

2. Среднее квадратичное отклонение σ – показывает насколько в среднем отличается каждая из вариаций от среднего арифметического

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n}}$$

3. Коэффициент вариации V – показывает какую долю σ составляет от

$$V = \frac{\sigma}{\bar{x}} \cdot 100\%$$

4. m – показывает ошибку средней арифметической

$$m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

Таблица 1

№		N			$(x_i - \bar{x})^2$	σ	m
1	25,1	4	100,4	26,9	3,24	9.89	1.22
2	25,3	3	75,9		2,56		
3	25,4	3	72,6		2,25		
4	25,5	1	25,5		1,96		
5	25,6	1	25,6		1,69		
6	25,7	2	51,4		1,44		
7	25,8	1	25,8		1,21		
8	25,9	1	25,9		1		
9	26	3	78		0,81		
10	26,1	1	26,1		0,64		
11	26,2	2	52,4		0,49		
12	26,3	3	78,9		0,36		
13	26,4	1	26,4		0,25		
14	26,7	2	53,4		0,04		
15	27	2	54		0,01		
16	27,2	1	27,2		0,09		
17	27,3	1	27,3		0,16		
18	27,5	1	27,5		0,36		
19	27,6	1	27,6		0,49		
20	27,7	3	83,1		0,64		
21	27,9	1	27,9		1		
22	28,2	1	28,2		1,69		

23	28,3	4	113,2		1,96		
24	28,4	5	142		2,25		
25	28,5	1	28,5		2,56		
26	28,6	1	28,6		2,89		
27	28,7	4	114,8		3,24		
28	28,8	2	57,6		3,61		
29	29	2	29		4,41		
30	29,3	1	29,3		5,76		
31	29,4	1	29,4		6,25		
32	29,5	1	29,5		6,76		
33	29,6	1	29,6		7,29		
34	29,8	1	29,8		8,41		
35	29,9	2	59,8		9		
36	30	1	30		9,61		
Σ		66	1772,2		96,38		

Анализ динамики показателей индекса массы тела у 66 человек с избыточной массой тела показал, что средний показатель индекса массы тела составил $26,9 \pm 1,22$. [3].

Результаты и обсуждение

Обследованы 330 сотрудников учреждения (15% мужчин и 85% женщин), средний возраст которых $30 \pm 0,45$ года. По наименованиям факторов риска: низкая физическая активность 200 человек (61 %), отягощенная наследственность – 111 (34 %), избыточная масса тела – 66 (20 %), повышенный уровень холестерина – 56 (17 %), нерациональное питание – 39 человек (12 %), ожирение – 29 (9 %), повышенный уровень артериального давления – 9 (3 %), повышенный уровень глюкозы – 8 (2 %) и курение табака – 8 (2 %).

Таким образом, результаты исследования установили высокую распространенность артериальной гипертензии и факторов риска среди сотрудников учреждения финансовой компании.

Столь широкая распространенность артериальной гипертензии обуславливает тот факт, что данная группа заболеваний является одной из ведущих причин трудопотерь, инвалидизации и смертности населения. Сердечно-сосудистые заболевания занимают 1-е место среди причин смертности, инвалидизации населения, 3,4 место среди причин заболеваемости, т.е. имеется тенденция к увеличению заболеваемости, смертности от ССЗ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чумакова О.С., Типтева Т.А., Резниченко Н.Е., Затейщиков Д.А. Научно-практический журнал Кардиология, том 55., 2015.-№10.- С.14-18.

2. Шамратова В.Г., Шарафутдинова Л.А. Возрастная физиология. Методические указания к практической части курса для студентов 4 курса биологического факультета 2013. – С.12-13.
3. Лобашев М.Е., Ватти К.В., Тихомирова М.М. Генетика с основами селекции.-1970.-С.247-255.
4. Макарова Г.А. Спортивная медицина. Учебник.- М.: Советский спорт , 2003. – С. 480.

АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ГЕНОВ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА У ЛЮДЕЙ С РАЗНЫМ ПИЩЕВЫМ ПОВЕДЕНИЕМ

Бухарбаева Э.Н., Воробьева Е.В.
ФГБОУ ВО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Ключевые слова: нутригенетика, пищевое поведение, липидный обмен

Краткая аннотация. Выполнен анализ пищевого поведения у студентов БГПУ им. Акмуллы и особенностей генов суперсемейства *А-АВСА6* и *АВСА10*.

Введение. Нутригенетика – одно из новых научных направлений, которое изучает взаимосвязь генетику человека и его питание. Специальные нутригенетические исследования позволяют определить, какие именно питательные вещества и в какой комбинации необходимы конкретному человеку, а какие, наоборот, противопоказаны.

Пищевые предпочтения являются одним из ключевых определений качества жизни человека. В последнее десятилетие большое внимание уделяется вопросам связи пищевого поведения и предрасположенности ко многим распространенным болезням, в том числе, хроническим. Нутригеномика и нутригенетика активно развиваются на основе генетики, и биохимии, а также ряда технологий для исследования сложного взаимодействия между генетическими и средовыми факторами, имеющими отношение к метаболическим процессам и здоровью человека. В то же время постоянно выявляются ассоциации уже известных генов и пищевых предпочтений человека, влияющих на риск развития той или иной патологии, связанной с типом питания. Питание является, вероятно, самым важным средовым фактором, который модулирует экспрессию генов, вовлеченных в метаболические пути и разнообразие фенотипов, связанных с ожирением[2].

Так, разработка способов индивидуализации программ пищевого поведения, которые основаны на данных генетического анализа является сейчас популярным направлением. Некоторые из таких первых подходов уже запатентованы и начинают применяться на практике. Среди генетических факторов, влияющие на правильный выбор диеты, чаще всего анализируют нуклеотидные полиморфизмы генов липидного обмена. Генетическая вариабельность этих генов значительно влияет на то, как быстро и эффективно усваиваются питательные вещества, поступающие с пищей, а это значит, что они могут препятствовать или помогать достижению и поддержке оптимального веса[2].

Многочисленные исследования показали, что пищевые предпочтения человека генетически детерминированы. Но также не стоит забывать о том,

что выбор пищи обусловлен и средовым фактором. Таким образом, нет однозначности в изучаемом вопросе, в связи с чем он до настоящего времени не теряет актуальности и в выявлении механизмов избыточной массы тела наиболее актуальным является изучение генов липидного обмена[3].

АТФ-связывающие кассетные транспортеры(АВС), к которым относятся *ABCA6* и *ABCA10*, образуют одно из самых крупных и самых консервативных суперсемейств трансмембранных белков, встречающихся во всех живых организмах. Большинство АТФ-связывающих кассетных транспортеров участвует в АТФ-зависимом переносе различных молекул, таких как аминокислоты, сахара и липиды через биологические мембраны. Они осуществляют свое действие благодаря наличию в своем составе специфических сайтов, позволяющих осуществлять транспорт через мембрану клетки. Между собой АВС-транспортеры различаются трансмембранными доменами, в то время как АТФ-связывающие домены являются высококонсервативной структурой, гомологичной для всех белков этого типа. Гены *ABCA6* и *ABCA10* локализованы на 17 хромосоме в локусе q24.2-3, входят в состав уникального кластера генов АТФ-связывающих кассетных транспортеров человека, расположенного на 17 хромосоме[1].

Размер гена *ABCA6* составляет около 62 kb, состоит из 39 экзонов и 38 интронов. Экспрессируется повсеместно, но больше всего он экспрессируется в печени, легких и сердце. В 25 интроне этого гена располагается Alu-элемент *Ya_435*. Белок *ABCA6* представляет собой полипептид, состоящий из 1617 аминокислот. Исходя из особенностей строения, предполагают, что *ABCA6* также задействован в поддержании липидного гомеостаза посредством макрофагов. В состав гена АТФ-связывающего кассетного транспортера *ABCA10* входят 39 интронов и 40 экзонов, его размер составляет около 97 kb. Топология его экспрессии совпадает с таковой у *ABCA6*. Белковый продукт этого гена состоит из 1543 аминокислот и имеет высокую гомологию с аминокислотной последовательностью кассетного транспортера *ABCA6*. Свойства и роль АТФ-связывающих кассетных переносчиков *ABCA6* и *ABCA10* изучены недостаточно[1].

Целью настоящего исследования является изучение влияния Alu-инсерций в генах АТФ-связывающих кассетных транспортеров субсемейства А на метаболизм липидов в организме человека при разных пищевых поведении.

Материалы и методы. Материалом исследования служили образцы ДНК 106 студентов БГПУ им. М. Акмуллы. Все они были опрошены по типу их питания.

Оценку питания и расчет калорийности проводили на основании формулы Харриса-Бенедикта, которая рассчитывает потребность организма в калориях на основной обмен. Затем, исходя из индекса массы тела, которая рассчитывается по формуле Кетеле, делается предположение о типе телосложения студента и выбирается наиболее подходящая пропорция трех

основных пищевых компонентов: белков, жиров, углеводов. С этими четырьмя основными параметрами: рекомендованной общей калорийностью, рекомендованной калорийностью белков, жиров, углеводов и сравнивается результат расчета дневного меню испытуемого, и уже потом относят к той или иной выборке.

Для выделения ДНК использовали метод фенольно-хлороформной экстракции ДНК из периферической крови. Генотипирование проводили с использованием метода ПЦР и детекцией их продуктов в 7 % ПААГ. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы «2x2». Анализ частот аллелей и генотипов проводили с применением критерия χ^2 .

Результаты и обсуждения. В ходе исследовательской работы было определено 5 выборок на основании опроса студентов по их питанию:

-индивиды, у которых потребляемая дневная калорийность соответствует рекомендованной-11 человек;

-индивиды, у которых потребление жиров и углеводов соответствует норме, а белки потребляются в недостаточном количестве-8 человек;

-индивиды, у которых потребление жиров соответствует норме, белки находятся в недостатке, а углеводы, наоборот, потребляются в избытке-51 человек;

-индивиды, у которых потребление углеводов соответствует норме, белки потребляются в недостаточном количестве, а жиры находятся в избытке-30 человек;

-индивиды, у которых потребление белков и жиров в недостаточном количестве, а углеводы находятся в избытке-6 человек.



Результаты опроса показали, что по разным группам пищевых предпочтений наблюдались неодинаковые комбинации у опрошенных студентов. Большая часть студентов потребляет недостаточное количество белков, а с углеводами или с жирами, наоборот, перебарщивают и употребляют в избытке. Те, кто питается согласно суточной норме, относятся всего 11 человек.

Было определено соответствие генетической структуры в исследованных выборках закону Харди-Вайнберга. Для проверки соответствия эмпирического распределения частот генотипов теоретически ожидаемому равновесному распределению Харди-Вайнберга использовали критерий χ^2 . Так в исследованных выборках по гену *ABCA6* (Ya_435): распределения частот генотипов и аллелей соответствует закону Харди-Вайнберга первая, вторая, четвертая и пятая выборки; наблюдаемые распределения частот генотипов соответствуют теоретически ожидаемому ($\chi^2=1,5$; $\chi^2=1,33$; $\chi^2=5,57$; $\chi^2=3$). В то время как, в третьей выборке по гену *ABCA6* (Ya_435) распределения частот генотипов и аллелей не соответствуют закону Харди-Вайнберга ($\chi^2=12,81$). Исходя из высокого уровня гомологии белка *ABCA10* с белком *ABCA6*, мы надеялись, что он обладает сходными с ним функциями. Однако анализ ассоциаций инсерции Alu-элемента *Yb8NBC48* в гене *ABCA10* не выявил статистически значимого влияния на параметры липидного профиля. При проведении генотипирования вообще не было обнаружено генотипа *ABCA10*I*I*. Однако было выявлено достоверное увеличение гетерозиготного генотипа *ABCA10*I*D* во всех выборках. Может быть, что полученные значения обусловлены лишь косвенным влиянием инсерции Alu-элемента в гене *ABCA10* на метаболизм липидов, а точнее тем, что они являются неспецифическими субстратами для *ABCA10*.

ЛИТЕРАТУРА:

1. И.В. Николаев, Л.Р. Каюмова, Г.Р. Гумерова, Е.В. Воробьева, В.Ю. Горбунова. Влияние Alu-инсерций на метаболизм липидов. Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы, Уфа, Россия. 2011. 4 с.
2. Тимошина И. А., Филипцова О. В. Ассоциации пищевых предпочтений у sibсов в украинских популяциях. Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина. 2013. 3 с.
3. Юдочкин А. В. Клинико-генетическая диагностика и диетотерапия метаболического синдрома у женщин репродуктивного возраста. Российская академия медицинских наук ФГБУ «НИИ ПИТАНИЯ». Москва. 2013. 94 с.

АНАЛИЗ ВЗАИМОСВЯЗИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ПЕРЕНОСЧИКА ДОФАМИНА SLC6A3 С ТИПАМИ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ У СТУДЕНТОВ

Валиахметова Э.Р., О.В.Гумерова

ФГБОУ ВО «БГПУ им. М. Акмуллы» г. Уфа

Ключевые слова: переносчик, дофамин, полиморфизм, типы ВНД, студенты.

Краткая аннотация. Проведена оценка роли полиморфного варианта гена переносчика дофамина SLC6A3(VNTR) на формирование типов высшей нервной деятельности у студентов.

Введение. Под высшей нервной деятельностью понимается совокупность индивидуальных особенностей центральной нервной системы человека, обусловленная его генотипом и условиями существования. Все индивидуальные особенности поведения, динамика психической деятельности зависят от индивидуальных различий в деятельности нервной системы. Основой же индивидуальных различий в деятельности нервной системы считают различные проявления, связь и соотношение нервных процессов – возбуждение и торможение. И. П. Павлов открыл три свойства процессов возбуждения и торможения:

- силу процессов возбуждения и торможения;
- уравновешенность процессов возбуждения и торможения;
- подвижность процессов возбуждения и торможения [1].

Ян Стреляу в своих исследованиях исходил из типологии нервной системы Павлова и смог доказать, что определение свойств нервной системы зависит от специфических свойств раздражителя (степени возбуждения и подавления, подвижности и сбалансированности нервных процессов). Таким образом, индивидуальные особенности высшей нервной деятельности определяются соотношением трех основных показателей — уровнем возбуждения, торможения и подвижности нервных процессов.

Известно, что процессы возбуждения и торможения опосредованы скоростью нервных процессов, которые в свою очередь определяются особенностями деятельности нейромедиаторных систем мозга. К числу ключевых нейромедиаторов относится дофамин. Синапсы, в которых передача информации осуществляется с помощью дофамина, обнаруживаются в целом ряде мозговых структур[2]. Поэтому актуальным представляется исследование влияния полиморфного варианта переносчика дофамина SLC6A3(VNTR) на формирование фенотипических различий по показателям высшей нервной деятельности.

Ген дофаминтранспортного белка SLC6A3 кодирует важный белок-переносчик дофамина, осуществляющий трансмембранный перенос нейромедиатора из синаптической щели. Дофамин относится к семейству

катехоламинов, является нейромедиатором и осуществляет передачу импульсов между нейронами. Также он участвует в биохимическом обеспечении множества процессов, которые протекают в центральной нервной системе и регулируют как базовые навыки (приём пищи, избегание опасности, половое поведение), так и высшие мозговые функции (мотивация, обучение, тонкая моторная координация, память, внимание)[3].

SLC6A3 принадлежит к семейству Na(+), Cl(—)-зависимых переносчиков нейромедиаторов, интегрирован в мембрану и осуществляет обратное поглощение нейромедиатора в пресинаптические терминалы. Ген SLC6A3 человека, длиной 52,6 т.п.н., локализован на 5-ой хромосоме в регионе p15.33 и содержит 15 экзонов. Известен полиморфизм числа tandemных повторов (VNTR) в 3'-нетранслируемой области гена с числом копий от 3 до 13 (длина одной копии 40 п.н.) VNTR ограничивает активность дофаминэргической системы путем обратного захвата нейромедиатора в пресинаптические терминалы. Распространённость числа копий повтора варьирует в популяциях. Показано, что это функциональный полиморфизм и активность SLC6A3 зависит от числа копий повтора. Обнаружены ассоциации полиморфизма VNTR с синдромом дефицита внимания и гиперактивностью, шизофренией и другими отклонениями поведения[4].

Любые нарушения функции SLC6A3, в первую очередь обусловленные вариантами полиморфизма гена, приводят к изменениям концентрации дофамина в синаптической щели и влияют на характеристики передачи нервного импульса. Исходя из этого, **целью** данной работы явилось исследование взаимосвязи полиморфного варианта гена переносчика дофамина SLC6A3(VNTR) с показателями типов высшей нервной деятельности у студентов.

Материалы и методы. Материалом исследования служили образцы ДНК 113 студентов, обучающихся в ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М.Акмиллы». Все они были протестированы для определения типа ВНД.

Определение типа ВНД был проведен с помощью тест-опросника Стреляу. Этот тест направлен на изучение и подсчета трех основных характеристик типа нервной деятельности: уровня силы процессов возбуждения F_v , уровня силы процессов торможения F_t , уровня подвижности нервных процессов, так же рассчитывается показатель уравновешенности процессов возбуждения и торможения по силе. Соответственно, тест содержит три шкалы, которые реализованы в виде перечня из 134 вопросов. Результаты диагностики обрабатываются по ключу. Затем подсчитывается сумма баллов по каждой шкале, уравновешенность

процессов F_v и F_t высчитывается по формуле:
$$R = \frac{F_v}{F_t}$$
, где R – уравновешенность по силе. Полученные данные позволяют судить о характерных чертах типа нервной деятельности и определить 4 типа ВНД:

1. Сильный уравновешенный подвижный тип – СУП;
2. Сильный уравновешенный инертный тип – СУИ;

3. Сильный неуравновешенный тип – СН;

4. Слабый тип – Сл.

Выделение ДНК проводилось с помощью метода фенольно-хлороформной экстракции [11].

Анализ полиморфного варианта гена SLC6A3(VNTR) проводился с помощью ПЦР – анализа.

Условия проведения ПЦР. Амплификацию проводили в растворе объемом 9,2 мкл, содержащем 1,5 мкл ПЦР-mix, 3,5 мкл H₂O, 4 мкл праймеров, 1,2 мкл ДНК. Полиморфный вариант анализируемого ДНК-локуса, последовательности праймеров и номенклатура аллелей представлены в **таблице 1**. Размеры продуктов амплификации исследовали с помощью электрофореза в полиакриламидном геле.

Таблица 1.

Полиморфный вариант, последовательности праймеров и номенклатура аллелей анализируемого ДНК-локуса

Ген (локализация), Полиморфизм	Праймеры (5' -> 3')	Аллели, п.о.	
SLC6A3 (5p15.3) VNTR	F: TGT GGT GTA GGG AAC GGC CTG AG	*3 – 200 *4 – 240 *5 – 280 *6 – 320	*8 – 400 *9 – 440 *10 – 480 *11 – 520
	R: CTT CCT GGA GGT CAC GGC TCA AGG	*7 – 360	

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного обеспечения MS Excel 2013 (Microsoft), таблиц сопряженности 2x2 (с поправкой Иэйтса) и критерия X².

Результаты и обсуждения. По результатам теста, вся исследованная выборка, из 113 человек, была разделена на три группы в зависимости от типа ВНД: СУП – 48 человек (42,47%); СУИ – 11 человек (9,73%); СН – 54 (47,80%). Слабого типа ВНД в исследуемой выборке обнаружено не было.

В результате молекулярно-генетического анализа полиморфизма VNTR гена SLC6A3, было выявлено два аллеля – *10, *9 и три генотипа *10/*10, *10/*9, *9/*9. Генотип *10/*10 встречался у 36 человека из выборки (31,86%), *10/*9 у 39 человека (34,51%), *9/*9 у 38 человек (33,63%); частота аллеля *10 составила – 50,88%, аллеля *9 – 49,12%.

В группе СУП установлено следующее распределение частот аллелей и генотипов: *10 – 51,04%, *9 – 48,96%, *10/*10 – 33,33% , *10/*9 – 35,42%, *9/*9 – 31,25%.

В группе СН частоты распределились следующим образом: *10 – 44,44%, *9 – 55,56%, *10/*10 – 29,63% , *10/*9 – 29,63%, *9/*9 – 40,74%.

В группе СУИ распределение частот составило: *10 – 63,64%, *9 – 36,36%, *10/*10 – 36,36% , *10/*9 – 54,55%, *9/*9 – 9,09%.

Проведен попарный анализ распределения частот генотипов и аллелей в зависимости от типа ВНД. При сравнении групп СУП и СН достоверных различий в распределении частот генотипов и аллелей не выявлено (таблица 2). Изучение распределения частот генотипов в обследованных группах не показало какого-либо преобладание частоты одного аллеля над другим, или какого либо генотипа над другим.

При сравнении групп СН и СУИ достоверных различий тоже не оказалось (таблица 3). Изучение распределения частот аллелей и генотипов показал, что у группы с сильным неуравновешенным типом СН преобладает генотип *9/*9 (40,74; p=0,0980).

При попарном сравнении групп СУП и СУИ также достоверных различий между частотами аллелей и генотипов не обнаружилось (таблица 4). Изучение распределения частот аллелей и генотипов показал преобладание аллеля *10 в обеих группах (51,04% у СУП и 63,64% у СУИ) и преобладание гетерозигот генотипа *10/*9 в группе СУИ (54,55%).

Таблица 2

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного варианта VNTR гена SLC6A3 в группах СУП и СН

ДНК – локус	Генотипы / аллели	СУП		СН		p(χ^2)
		N	p, %	n	p, %	
SLC6A3 (VNTR)	*10/*10	16	(33,33)	16	(29,63)	0,8511 (0,0360)
	*10/*9	17	(35,42)	16	(29,63)	0,6807 (0,1698)
	*9/*9	15	(31,25)	22	(40,74)	0,4308 (0,6226)
	*10	49	(51,04)	48	(44,44)	0,4235
	*9	47	(48,96)	60	(55,56)	(0,6426)

Таблица 3

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного варианта VNTR гена SLC6A3 в группах СН и СУИ

ДНК – локус	Генотипы / аллели	СН		СУИ		p(χ^2)
		N	p, %	n	p, %	
SLC6A3	*10/*10	16	(29,63)	4	(36,36)	0,9350 (0,0073)

(VNTR)	*10/*9	16	(29,63)	6	(54,55)	0,2149 (1,5436)
	*9/*9	22	(40,74)	1	(9,09)	0,0980 (2,7396)
	*10	48	(44,44)	14	(63,64)	0,1594
	*9	60	(55,56)	8	(36,36)	(1,9845)

Таблица 4

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного варианта VNTR гена SLC6A3 в группах СУП и СУИ

ДНК – локус	Генотипы / аллели	СУП		СУИ		p(χ^2)
		N	p, %	n	p, %	
SLC6A3 (VNTR)	*10/*10	16	(33,33)	4	(36,36)	1,0005 (0,0005)
	*10/*9	17	(35,42)	6	(54,55)	0,4068 (0,6904)
	*9/*9	15	(31,25)	1	(9,09)	0,2639 (1,2439)
	*10	49	(51,04)	14	(63,64)	0,4065
	*9	47	(48,96)	8	(36,36)	(0,6917)

Таким образом, результаты проведенного сравнительного анализа не показали на наличие ассоциации типов ВНД с полиморфизмом гена SLC6A3. Установлено, что в группе студентов с сильным неуравновешенным типом ВНД достоверно выше частота гомозигот генотипа *9/*9 (40,74; p=0,0980).

ЛИТЕРАТУРА

1. Немов Р. С. Психология // Учебник для студентов высших пед. учеб. заведений М., Просвещение, 1995 – С.394
2. Lahti R.A., Lahti A.C. Images in neuroscience. Clinical genetics. V. Association of genetic and personality characteristics // Am. J. Psychiatry. 1997. V. 154.
3. Иванец Н.Н., Анохина И.П., Винникова М.А. **Наркология – национальное руководство** //Руководство предназначено наркологам, психиатрам, студентам старших курсов медицинских вузов, интернам, ординаторам, аспирантам., ГЭОТАР-Медиа, 2008.
4. Марусин А.В., Спиридонова М.Г., Гончарова И.А., Харьков В.Н., Пельс Я.Р., Степанов В.А. Распространенность полиморфизма варьирующих tandemных повторов (VNTR) в 3'- нетранслируемой области гена переносчика дофамина (DAT1) в популяциях русских, хантов и якутов

[Текст] // ГУ НИИ медицинской генетики Томского научного центра СО РАМН (Томск), 2006.

5. Mathew C.C. The isolation of high molecular weight eucariotic DNA / C.C. Mathew // Methods in Molecular Biology. Human Press, 1984. – V.2.

ПОТЕНЦИАЛ БАКТЕРИЙ РОДОВ *HALOMONAS* И *PSEUDOMONAS* В ДЕГРАДАЦИИ СИСТЕМНОГО ГЕРБИЦИДА 2,4- ДИХЛОРФЕНОКСИУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ

Васильева А. М., Нурушева Л. М.,
ФГБОУ ВО «БГПУ им М. Акмуллы» г. Уфа
Гильванова Е. А.
ФГБУН «УИБ УНЦ РАН» г. Уфа

Ключевые слова: 2,4 Д, ксенобиотики, гербициды, *Halomonas*, *Pseudomonas*, ген *16S рРНК*

Краткая аннотация. Двенадцать галоалкалофильных штаммов бактерий семейства *Halomonadaceae* и *Pseudomonadaceae* из коллекции уфимского Института биологии были протестированы на способность использовать гербицид 2,4-Д в качестве единственного источника углерода. Также был изучен ген *tfdA*, контролирующий первую фазу деградации 2,4-Д. Изученные штаммы-деструкторы могут быть использованы в биотехнологии для биоремедиации загрязненных и засоленных почвах.

Введение. Открытие ауксина и его синтетических аналогов (их известно в настоящее время более ста) было использовано в растениеводстве в двух направлениях: для регулирования и развития растений и избирательного уничтожения сорной растительности. Применительно к 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) основным оказалось второе направление.

В последние годы вызывают тревогу экологические проблемы, создаваемые производством и применением 2,4-Д. Это, прежде всего образование диоксинов при получении феноксикислоты и загрязнение окружающей среды и пищевых продуктов самим 2,4-Д и продуктами ее превращений [1].

Известно, что бактерии играют основную роль в разложении (хлор)ароматических углеводородов в природе и, таким образом, становятся все более перспективными объектами для создания биотехнологий восстановления природной среды. Микробные клетки способны осуществлять ассимиляцию разнообразных химических субстанций, в ходе которых они выполняют процессы конверсии молекул ксенобиотиков до экологически безопасных продуктов, тем самым способствуют биоремедиации почв [2-4].

Именно поэтому в настоящее время применение микроорганизмов рассматривается как основа наиболее выгодных способов поддержания качества окружающей среды.

Также известно, что деградация 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты находится под контролем гомологов гена *tfdA* в клетках микроорганизмов. (Ген *tfdA* – это ген инициации катаболизма 2,4-Д, кодирует α -

кетоглутаратзависимую диоксигеназу (*tfdA*), которая катализирует первую стадию в пути деградации 2,4-Д).

Цель работы - выявить штаммы бактерий семейства *Halomonadaceae* и *Pseudomonadaceae* из коллекции уфимского Института биологии, способные использовать гербицид 2,4-Д в качестве единственного источника углерода, а также выявить наличие гомологов гена *tfdA* контролирующих данный процесс.

Объекты и методы исследования. Объектами исследований служили γ -протеобактерии из коллекции микроорганизмов Уфимского Института биологии. Большую часть культур (9 штаммов) составили галоалкалофильные бактерии семейства *Halomonadaceae*, два изолята бензоатустойчивых бактерий и штамм Ибс, выделенный при скрининге продуцентов циклодекстринглюканотрансферазы. Все штаммы таксономически охарактеризованы по результатам анализа морфологических, физиолого-биохимических признаков и отнесены предварительно к грамтрицательным бактериям семейств *Halomonadaceae* и *Pseudomonadaceae*. В качестве модельных штаммов были отобраны культуры Ибс и И6, продемонстрировавшие хороший рост на минимальной агаризованной среде М9 [5] с небольшими изменениями, содержащей 2,4-Д в качестве единственного источника углерода.

На примере наиболее активных в отношении к 2,4-Д штаммов было проведено культивирование в периодической культуре на минимальной среде с феноксисукусной кислотой в концентрации 100 мг/л. Оптическую плотность бактериальной суспензии измеряли методом нефелометрии при длине волны 590 нм. Рост штаммов Ибс и И6 в периодической культуре был при 28 °С и 160 об/мин в течение 7 суток. Культивирование обоих штаммов проводили в оптимальных для роста каждого условиях (рН, концентрация NaCl).

Для выделения бактериальной геномной ДНК использовали набор реактивов фирмы Axugen biosciences, согласно рекомендациям производителя.

Так как полнее всего изучен *tfdA*-ген инициации 2,4-Д - катаболизма локализованный на плазмиде рJP4 (штамм *Wautersia eutropha* JMP134) для амплификации гена *tfdA* были использованы праймеры на этот ген.

Амплификации гена 16S рРНК штамма И6 и Ибс. Для проведения полимеразной цепной реакции гена 16S рРНК, с целью получения полноразмерной копии гена 16S рРНК, была использована универсальная праймерная система с праймерами 8-27F и 1492R.

Анализ продуктов ПЦР. Для анализа продуктов ПЦР был проведен электрофорез ПЦР в 1.5% агарозном геле.

Секвенирование штаммов И6 и Ибс проводилось по методу Сэнгера.

Был проведен анализ полученной последовательности путем сравнения с аналогичными последовательностями, помещенными в базу данных GenBank. Первичный анализ сходства нуклеотидных последовательностей

генов 16S рРНК изучаемых штаммов проводили с помощью программного пакета BLAST. Последовательность гена 16S рРНК штамма 5Д была выровнена с указанными в таблице соответствующими последовательностями ближайших видов бактерий с помощью программы CLUSTAL.W

Результаты и обсуждение. Профили роста штаммов Ибс и Иб в периодической культуре при 28 °С и 160 об/мин в течении 7 суток представлены на рисунке 1 ниже.



Рис.1. Зависимость значений оптической плотности OD590 биомассы деструкторов Иб и Ибс от времени культивирования в условиях использования 2,4-Д в качестве единственного источника углерода.

Исследование динамики накопления биомассы в периодической культуре выявило разный характер роста тестируемых штаммов. Отсутствие лаг-фазы было существенным отличием в профиле роста культуры Ибс от роста галомонадного штамма Иб. При культивировании штамма Иб лаг-фаза длилась сутки, после чего следовала экспоненциальная фаза роста с максимальным значением $OD_{590}=1.68$. Через 7 суток, после стационарной фазы роста для обоих вариантов наблюдали начало падения значений OD_{590} , что соответствовало периоду отмирания клеток.

По результатам электрофорезов, проведенных после амплификации гена инициации катаболизма 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты *tfdA*, было установлено, что в геноме штаммов Иб и Ибс имеются гомологи гена *tfdA*.

Таксономический статус штаммов-деструкторов был уточнен с использованием метода сиквенс-анализа гена *16S pРНК*, который показал, что для галомонадного штамма Иб филогенетически близким оказался *Halomonas desiderata* с уровнем сходства гена 99,98%. Видовая принадлежность штамма Ибс к *Pseudomonas stutzeri* подтверждена 100% гомологией гена. Представители рода *Pseudomonas* – наиболее часто упоминаемые биологические агенты трансформации различных (хлор)ароматических соединений, но *Pseudomonas stutzeri*, как впрочем, и бактерии рода *Halomonas* в качестве деструкторов 2,4-Д заявлены впервые.

Изученные бактерии представляют несомненный интерес в плане утилизации системного гербицида 2,4-Д, особенно в условиях повышенной засоленности почв.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Bajaj, M.; Gallert, C.; Winter, J. Biodegradation of high phenol containing synthetic wastewater by an aerobic fixed bed reactor // *Bioresour. Technol.*, 2008. V. 99, p.8376–8381
2. Ка, J. O., W. E. Holben, J. M. Tiedje. Genetic and phenotypic diversity of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)-degrading bacteria isolated from 2,4-D-treated field soils // *Appl. Environ. Microbiol.*, 1994.V. 60 p. 1106–1115
3. Sorensen, S. R., A. Schultz, O. S. Jacobsen, J. Aamand. Sorption, desorption and mineralization of the herbicides glyphosate and MCPA in samples from two Danish soil and subsurface profiles // *Environ. Pollut.*, 2006. V. 141 p. 184–194
4. Kumar A., Trefault N., Olaniran A.O. Microbial degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid: Insight into the enzymes and catabolic genes involved, their regulation and biotechnological implications // *Critical Reviews in Microbiology*, 2016, V.42 N 2 p. 194-208
5. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М.: Мир, 1984. 480 с.

ФЛОРА ТЕРРИТОРИЙ ВЫСОКОЭТАЖНЫХ ЗАСТРОЕК Г. БЛАГОВЕЩЕНСКА

Вильданова Г.И., Хусаинов А.Ф.
ФГБОУ ВО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Ключевые слова: адвентивные виды. жизненные формы, флора, синантропная растительность. урбанофлора.

Краткая аннотация: приводятся данные об изучении флоры территорий высокоэтажных застроек г. Благовещенска. Выявлен и проанализирован состав флоры исследуемой территории.

Введение

Под влиянием человека на урбанизированных территориях меняется флора и растительность. На месте естественной зональной растительности формируются синантропизированная и синантропная, в составе которой, кроме местных естественных и синантропных видов, появляются «пришельцы» из других районов (адвентивные виды). Материалы о современном состоянии флоры дают правильное понимание ее истории и прогноз возможных изменений в будущем. Изученность состава флоры городов является необходимым условием для выяснения общих закономерностей процессов урбанизации растительного покрова. Контроль над состоянием таких синантропизированных территорий в настоящее время является важнейшей задачей экологов.

Целью моей работы было выявление и анализ флоры территорий высокоэтажных застроек г. Благовещенска.

Материалы и методы

Объектом исследования была выбрана флора территорий высокоэтажных застроек г. Благовещенска. Большая часть территории представлена Прибельской увалисто-волнистой равниной, юго-западных отрогов Уфимского плато[1]. Средняя годовая температура воздуха составляет от 1,7°C до 2,8°C. Среднее годовое количество осадков 450-500 мм. На территории города почвенно-растительный покров многократно разрушен при строительстве городских и промышленных объектов, и субстрат представлен почвогрунтами с примесью строительного мусора.

В ходе маршрутных исследований территорий высокоэтажных застроек г. Благовещенска в полевой сезон 2014 – 2015 годов авторами было выполнено 16 геоботанических описаний и собрано около 200 листов гербарного материала.

Результаты и их обсуждение

Результаты анализа систематического состава растений показали, что флора сосудистых растений зоны высокоэтажных застроек г. Благовещенска в настоящее время включает 126 видов, 97 родов и 30 семейств.

Анализ систематического состава растений показал экстремальность условий, создаваемой для заселения растений и молодость данной флоры. Из 30 семейств, зарегистрированных на территории, 8 содержат 6 и выше видов. 1 семейство представлено 4 видами, 2 – тремя, 3 – 2, 16 – 1 видом.

Наиболее распространенными семействами на исследуемой территории являются: *Asteraceae* и *Poaceae*.

Показатель насыщенности родов невысокий, многовидовых родов немного. Наиболее насыщены видами род *Poa* (5). 5 родов включают по 3 вида, 14 родов по 2, 78 – 1 вид.

Сравнение 8 ведущих семейств по занимаемым им местам с общей флорой Республики Башкортостан (РБ) [2,3]. К 8 ведущим семействам (табл. 1) во флоре города принадлежат 69 родов (71,1%) и 94 вида (74,6%). Такое высокое число видов в сравнительно небольшом количестве семейств, свойственно территориям с экстремальными условиями развития растительного покрова [4]. В данном случае экстремальные условия формируются под влиянием постоянного нарушения, отсутствия почвы, захламления строительным мусором, недостатка влаги и высокой инсолируемости.

Таблица 1

Ранжирование 8 ведущих семейств флоры территорий высокоэтажных застроек г. Благовещенска и РБ по числу видов

Семейство	Место во флоре	
	г.Благовещенск	РБ
1. Asteraceae	1	1
2. Poaceae	2	2
3. Fabaceae	3	6
4. Brassicaceae	4-5	5
5. Rosaceae	4-5	3
6. Chenopodiaceae	6	11
7. Apiaceae	7-8	10
8. Polygonaceae	7-8	13

Наиболее представительными семействами на территориях высокоэтажных застроек г. Благовещенска являются *Asteraceae*, *Poaceae*, *Fabaceae*, *Brassicaceae*, *Rosaceae*. В обеих флорах I-II места занимают семейства *Asteraceae*, *Poaceae*, соответственно, на III месте во флоре города находится семейство *Fabaceae*, а во флоре Башкортостана *Rosaceae*. На IV месте – *Brassicaceae*, а во флоре Башкортостана *Superaceae*. Высокое положение семейств *Brassicaceae*, *Chenopodiaceae*, *Polygonaceae* указывает на нарушенность территории города, потому что именно в этих семействах велико число рудеральных и сегетальных видов, т.е. велика степень антропогенного воздействия.

Возрастание роли семейств Fabaceae и Arіaseae связано с аридизацией, то есть иссушением и сильной прогреваемостью участков высокоэтажных застроек города, так как эти семейства являются выходцами из более южных, аридных территорий.

Анализ жизненных форм флоры территорий по К. Раункиеру показывает, что для ее состава характерно преобладание гемикриптофитов (69 видов – 54,8%). Это свидетельствует о преобладании видов-антропопотолерантов естественных растительных сообществ.

Другой массово представленной жизненной формой являются терофиты (41 вид – 32,5%). Высокое участие терофитов является показателем нарушенности и синантропизации растительности.

Согласно классификации И.Г. Серебрякова больше половины видов флоры составляют поликарпические травянистые растения (58 видов – 46%), среди которых преобладают стержнекорневые растения (19 видов – 32,7%) и длиннокорневищные (12 видов – 20,7%). Основную часть поликарпических трав составляют аборигенные виды растений.

Вторая, по величине, группа представлена монокарпическими травянистыми растениями (56 видов – 44,4%), среди которых преобладают однолетники (37 видов – 66,1%) и двулетники (13 видов – 23,2%), большая часть которых являются адвентивными видами. Следует отметить также невысокую долю деревьев (7 видов – 5,5%) и кустарников (4 вида – 3,2%), что обусловлено присутствием дичающих культурных растений и поступлением зачатков из близлежащих лесных массивов.

Анализ происхождения видов (табл. 2) показал преобладание аборигенных видов – 82 вида (65,1%). Также выявлено 44 (34,9%) адвентивных вида, из них 28 (22,2%) – кенофиты., 16 (12,7%) – архефиты.

Таблица 2

Анализ происхождения видов флоры территорий высокоэтажных застроек г. Благовещенска

Группа видов	Число видов / %
Апофиты	82/65,1
Кенофиты, в том числе:	28/22,2
Эукенофиты	20/15,9
Гемикенофиты	8/6,3
Архефиты	16/12,7
Всего	126/100

В сложении растительного покрова вторичных местообитаний большое участие принимали и принимают аутохтонные эрозиофилы, нитрофилы, пасквальные и другие растения. Большое число заносных видов объясняется с тем, что исследуемая территория находится близ автомобильной трассы [5].

Участие заносных видов во флоре многоэтажных застроек – 34,9%, что определяет и степень её адвентизации.

Принадлежность вида к ценофлоре класса по системе Браун-Бланке является его наиболее общей характеристикой выражающей экологию, фитоценологию и географию видов [7, 8].

Во флоре исследуемой территории значительную часть представляют виды синантропных классов (76 видов – 60,3%). Из синантропной растительности в исследуемой территории высока представленность видов однолетников класса *Stellarietea mediae* (32 вида – 25,4%). Большую роль играют двулетние и многолетние рудеральные растения последующих стадий восстановительной сукцессии – рудеральные сообщества высокорослых ксеро-мезофитных сорных видов порядка *Onopordetalia acanthii* (13 видов – 10,3%), сообщества вытаптываемых местообитаний класса *Polygono arenastri-Poetea annuae* – (11 видов – 8,7%), рудеральные сообщества мезофитных многолетников порядка *Artemisietalia vulgaris* (10 видов – 7,9%), рудеральные многолетние злаковники порядка *Agropyretalia repentis* (4 вида – 3,2%), синантропных сообществ нарушенных переувлажненных местообитаний класса *Bidentetalia tripartitae* (4 вида – 3,2%). Синантропизированная лесная растительность представлена нитрофильными сообществами затененных мест и опушек в лесопарках и скверах, в поймах рек класса *Galio-Urticetea* (1 вид – 0,8%), городской спонтанной древесной растительностью класса *Robinietea* (1 вид – 0,8%).

В составе классов значительную часть представляют выходцы из естественной растительности: луговой – *Molinio-Arrhenatheretea* (22 вида – 17,4%), степной – *Festuco-Brometea* (6 видов – 4,7%), широколиственных лесов – *Quercus-Fagetea* (4 вида – 3,2%), луговых сообществ лесных опушек и редколесий – *Trifolio-Geranietea sanguinei* (3 вида – 2,4%), пойменных лесов – *Salicetea purpureae* (3 вида – 2,4%), околоводных сообществ гелофитов – *Phragmito-Magnocaricetea* (2 вида – 1,6%), влажных лугов на засоленных почвах – *Scorzonero-Juncetea gerardii* (0,8 %). Виды естественной флоры показывают связь флоры села с исходной коренной растительностью – лугами, степями, лесами и т.д.

В целом флора естественных классов включает 41 вид, что составляет 32,5 % от всей совокупности.

На основании выполненного исследования можно сделать вывод, что влияние человека на окружающую среду вызывает усиленную синантропизацию флоры. Наиболее интенсивные изменения растительности и формирующей ее флоры наблюдается в условиях постоянных поселений человека – в городах.

Выводы:

1. Флора насчитывает 126 видов растений, которые относятся к 97 родам и 30 семействам. Среднее число видов семейств 4,2, родов – 3,2. Среднее число видов в родах – 1,3.

2. При анализе жизненных форм К Раункиера выявилось преобладание гемикриптофитов (69 видов - 54,8%), и терофитов (41 вид – 32,5%), а по классификации И.Г. Серебрякова – поликарпических травянистых растений (58 видов – 46%). Монокарпики (56 видов – 44,4%) представлены в основном однолетниками (37 видов – 66,1%) и двулетниками (13 видов – 23,2%).

3. Анализ происхождения видов показал преобладание апофитов (82 вида – 65,1%). Также выявлено 44 (34,9%) адвентивных вида, Участие заносных видов во флоре микрорайона высотных застроек составляет 34,9%, что определяет и степень ее адвентизации.

4. Из фитосоциологического спектра флоры видно, что значительную часть представляют виды синантропных классов (76 видов – 60,3%). Флора естественных классов включает 41 вид, что составляет 32,5 % от всей совокупности. Степень синантропизации флоры – 76,2%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кадыльников И.П. Физико-географическое районирование Башкирской АССР/ И.П. Кадыльников, А.А. Цветаев, Е.С.Смирнова, М.Ф. Хисматов. – Уфа, 2005. – 212 с.

2. Наумова Л.Г., Хусаинов А.Ф. Научно-исследовательская деятельность студентов: изучение флоры населенных пунктов. Учебно-методическое пособие для бакалавров и магистров. – Уфа, 2010. – 116 с.

3. Определитель высших растений Башкирской АССР в 2-х томах под ред. Кучерова Е.В. – Наука, 1988. – 316 с.; Наука, 1989. – 375 с.

4. Толмачев А.И. Введение в географию растений. – Л.: Изд-во Ленингр. гос. ун-та, 1974. – 244 с.

5. Krause W. Über die Herkunft der Unkräuter // Natur und Volk., 1956. Vol. 4. – S. 109-119.

6. Миркин Б.М., Наумова Л.Г. Наука о растительности (история и современное состояние основных концепций). – Уфа, 1998. – 413 с.

7. Миркин Б.М., Сахапов М.Т. О некоторых вопросах изучения рудеральной растительности городов // Экология. – 1990. - № 5. – С. 18 – 28.

ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ФАКТОРА ВЫТАПТЫВАНИЯ НА ПОПУЛЯЦИИ *POLYGONUM AVICULARE* L. И СООБЩЕСТВА С ДОМИНИРОВАНИЕМ ЭТОГО ВИДА

Габдуллина Э.И., Наумова Л.Г.

ФГБОУ ВО БГПУ им. М. Акмуллы, г. Уфа, Россия

Актуальность исследования. *Polygonum aviculare* – ценный ресурсный вид, широко используемый в медицине (Федоров и др., 2013). Он является широко распространенным космополитным видом, ареал которого охватывает все материки (Бигон и др., 1989). *Polygonum aviculare* имеет специфическую экологию: он связан с сильно вытаптываемыми местообитаниями. Несмотря на то, что *Polygonum aviculare* посвящено много литературных источников, в Башкортостане этот вид не изучался.

Цель исследования: провести сравнительный анализ двух популяций *Polygonum aviculare* в сообществах, испытывающих разную нагрузку вытаптывания.

Задачи исследования:

– выполнить сравнительный анализ видового состава двух сообществ с доминированием *Polygonum aviculare*;

– охарактеризовать плотность и биоморфологические особенности особей этих популяций;

– оценить виталитет изученных популяций.

Объект и методы исследования

Исследование было выполнено на территории поселка Юматово (Уфимский район) Республики Башкортостан в июле 2015 г.

В качестве объекта исследования было выбрано два рудеральных сообщества с доминированием *Polygonum aviculare*. Одно сообщество сформировалось вдоль тропинки и испытывает сильное влияние вытаптывания, другое сообщество – в удалении от тропинки и подвергается значительно более слабому влиянию этого фактора.

Были использованы следующие **методы исследования:**

метод геоботанического описания. Геоботанические описания были выполнены в соответствии со стандартной методикой (Наумова, Хусаинов, 2010; Миркин, Наумова, 2014) на серии из 10 примкнутых площадок размером 2x0,5 м²;

методы изучения популяций:

а) оценка плотности популяций на серии площадок, на которых подсчитывалось число особей *Polygonum aviculare* и обилие прочих видов сообщества);

б) анализ биоморфологических параметров популяций (число побегов, длина самого большого побега, вес растения). Исходный материал был

получен выборочным методом при $n=30$ и был обработан статистически (среднее, ошибка выборочности, коэффициент вариации);

в) определение виталитета популяций по Ю.А. Злобину (2009).

Результаты исследования и их обсуждение

Геоботаническая характеристика изученных сообществ. В табл. 1 приведен видовой состав сообществ.

Таблица 1

Видовой состав изученных сообществ

Вид	Сообщество	
	1 (сильное влияние вытаптывания)	2 (слабое влияние вытаптывания)
Число видов	10	7
Среднее обилие доминанта (в баллах)		
<i>Polygonum aviculare</i>	4	4
Встречаемость прочих видов (в %)		
<i>Elytrigia repens</i>	90	70
<i>Plantago maior</i>	90	10
<i>Taraxacum officinale</i>	60	20
<i>Atriplex patula</i>	40	20
<i>Cichorium intybus</i>	60	20
<i>Convolvulus arvensis</i>	20	20
<i>Potentilla argentea</i>	80	-
<i>Glechoma hederacea</i>	30	-
<i>Berteroa incana</i>	20	-

Из табл. 1 очевидно, что доминантом в обоих сообществах является *Polygonum aviculare* (4 балла). Видовой состав сообществ бедный и сформирован за счет рудеральных видов, которые представлены единично. При этом в сообществе 1 (интенсивное вытаптывание) число видов несколько выше. Оба сообщества испытывают влияние вытаптывания, но разница интенсивности этого влияния недостаточна для существенной дифференциации видового состава.

Плотность популяций *Polygonum aviculare*

Значительный интерес представляет анализ особенностей популяций *Polygonum aviculare* в условиях разных режимов вытаптывания. В табл. 2 приведены результаты изучения плотности популяций.

Таблица 2

Влияние интенсивности вытаптывания на плотность популяций *Polygonum aviculare* (шт./м²)

Параметры	Варианты	
	слабое влияние вытаптывания	сильное влияние вытаптывания
Среднее арифметическое	795	867
Ошибка выборочности	131	98
Коэффициент вариации, %	49,43	33,81

Из табл. 2 очевидно, что по величине средних арифметических значений плотность изученных популяций *Polygonum aviculare* различается недостоверно. Несущественны и различия коэффициентов вариации. Это можно объяснить тем, что условия для произрастания этого доминанта благоприятны в обоих сообществах. Как будет показано далее, различия популяций проявляются на уровне биоморфологических параметров.

Характеристика биоморфологических параметров особей двух популяций

В табл. 3 приведены результаты оценки биоморфологических параметров особей *Polygonum aviculare* в двух изученных популяциях: числа побегов, длины самого большого побега, сухого веса растений.

Влияние интенсивности вытаптывания не вызвало изменения флористического состава сообществ с доминированием *Polygonum aviculare* и изменения плотности популяции этого вида, однако его влияние на биоморфологические параметры популяций существенно – все средние значения биоморфологических параметров достоверно различаются на уровне 0,999.

У растений популяции, испытывающей сильное влияние вытаптывания, число побегов в 5 раз меньше, чем у растений популяции, испытывающей слабое влияние этого фактора, длина побега меньше почти в 2 раза, а сухой вес растения – меньше в 5 раз.

Таблица 3

Влияние интенсивности вытаптывания на биоморфологические параметры особей популяций *Polygonum aviculare*

Признак	Варианты					
	Сильное вытаптывание			Слабое вытаптывание		
	среднее	ошибка сред- него	коэффи- циент вариации	сред- нее	ошибка сред- него	коэф- фи- циент вариа- ции
Число						

побегов, шт.	10,35	0,78	41,19	49,40	4,73	52,39
Длина самого большо- го побега, см	14,56	0,62	23,36	37,2	1,72	25,32
Вес растения, г	0,488	0,03	35,62	1,62	0,18	60,83

Такая реакция на усиление вытаптывания свидетельствует о высокой пластичности *Polygonum aviculare* к действию этого фактора.

Виталитет популяций

Существенным интегральным признаком, характеризующим популяции растений, является их виталитет (Злобин, 2009).

На рис. 1-2 показаны виталитетные спектры исследованных популяций.

В популяции при слабом вытаптывании, как отмечалось, растения в среднем более крупные, однако их дифференциация по размеру заключается в том, что преобладают мелкие особи и за счет этого тип популяции оценивается как депрессивный. Объяснить этот феномен сложно, однако мы полагаем, что группа небольших по размеру растений представлена молодыми особями, которые постоянно пополняют состав популяции.

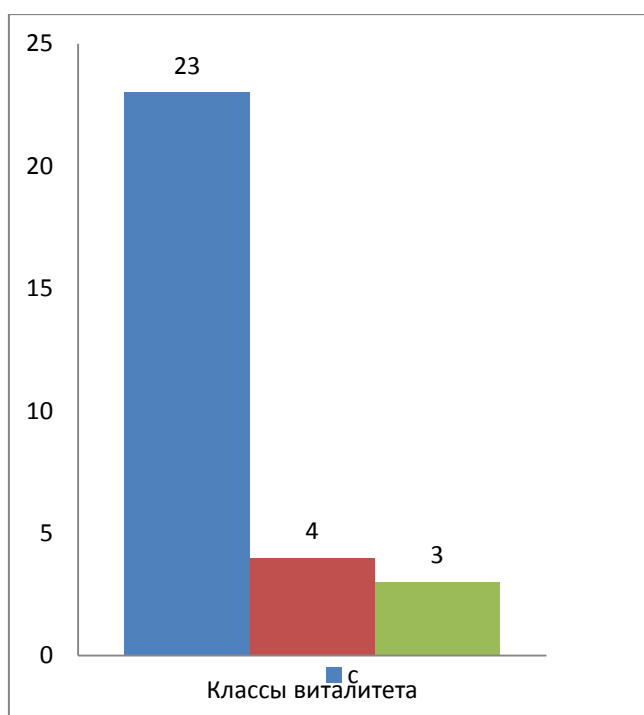


Рис. 1. Виталитетный спектр популяции *Polygonum aviculare*

в сообществе, испытывающем слабое влияние вытаптывания

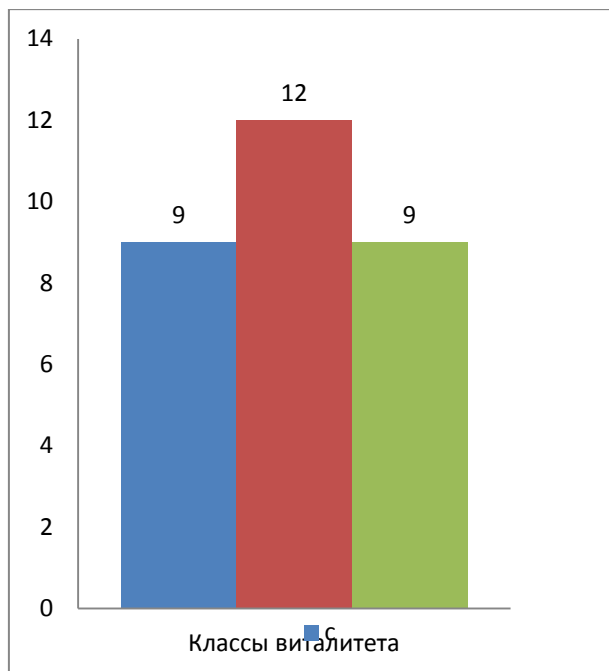


Рис. 2. Виталитетный спектр популяции *Polygonum aviculare* в сообществе, испытывающем сильное влияние вытаптывания

Популяция, сформировавшаяся в условиях сильного вытаптывания (рис. 2), напротив, представляет равновесный тип виталитета. Это показывает уже отмеченную устойчивость *Polygonum aviculare* к влиянию выпаса.

Заключение и выводы

Polygonum aviculare L. – вид-пациент, широко распространенный на вытаптываемых местообитаниях. Его участие в составе растительных сообществ увеличивается в ходе аллогенных антропогенных сукцессий пастбищной дигрессии и рекреационных сукцессий.

В современной синтаксономии *Polygonum aviculare* является диагностическим видом класса *Polygono arenastri-Poëtea annuae*, порядка *Polygono arenastri-Poëta lia annuae*, союза *Coronopodo-Polygonion arenastri* Sissingh 1969 и ассоциации *Polygonetum arenastri* Gams 1927 corr.Lániková in Chytrý 2009.

По материалам исследования могут быть сделаны следующие **выводы**:

1) в литературе широко обсуждаются сообщества с участием *Polygonum aviculare* как стадии сукцессий пастбищной дигрессии и рекреационных изменений. Значительное число работ посвящено синтаксономии сообществ с доминированием *Polygonum aviculare*;

2) усиление влияния вытаптывания на сообщества с доминированием *Polygonum aviculare* не вызывает существенных изменений флористического состава, поскольку он крайне беден и обилие видов очень низкое;

3) усиление вытаптывания не оказывает существенного влияния на плотность популяций *Polygonum aviculare*, так как вид обладает высокой толерантностью к влиянию этого фактора;

4) усиление интенсивности вытаптывания оказывает очень существенное влияние на биоморфологические параметры растений *Polygonum aviculare*: число побегов уменьшается в 5 раз, длина побега – почти в 2 раза, а сухой вес растения – в 5 раз;

5) при сильном влиянии вытаптывания *Polygonum aviculare* формирует популяции, виталитет которых оценивается как равновесный, при слабом влиянии вытаптывания в популяции преобладают мелкие особи и ее виталитет оценивается как депрессивный.

ЛИТЕРАТУРА

Бигон М., Харпер Дж., Таунсенд К. Экология. Особи, популяции и сообщества, Т.1. М.: Мир, 1989. 667с.

Злобин Ю.А. Популяционная экология растений: современное состояние, точки роста. Сумы: Университетская книга, 2009. 263 с.

Миркин Б.М., Наумова Л.Г. Краткий энциклопедический словарь науки о растительности. – Уфа: Гилем, Башк. энцикл., 2014. 288 с.

Наумова Л.Г., Хусаинов А.Ф. Научно-исследовательская деятельность студентов: изучение флоры населенных пунктов: учебно-методическое пособие для бакалавров и магистров. Уфа: Изд-во БГПУ, 2010. 116 с.

Федоров Н.И., Жигунова С.Н., Михайленко О.И. Методологические основы оптимизации ресурсного использования лекарственной флоры Южного Урала. М.: Наука, 2013. 212 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФНЫХ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА (АСЕ) В ПАТОЛОГИИ РАЗВИТИЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Габделисламова Д.М., Горбунова В.Ю.
ФГБОУ ВО «БГПУ им М. Акмуллы» г. Уфа

Ключевые слова: полиморфизм аллелей гена, ангиотензин-превращающий фермент, патологии беременности,

Аннотация.

У 100 женщин (50 из которых с различными патологиями беременности и 50 здоровых, имеющих детей) изучали полиморфизм гена ангиотензинпревращающего фермента (АСЕ) I/D. В опытной и контрольной группах достоверных различий не выявлено ($p > 0,05$). Изучение распределения частот генотипов в обследованных группах показало преобладание гомозиготного генотипа DD (50% у опытной группы) и гетерозиготного генотипа ID (50% у контрольной группы).

Введение. В настоящее время не вызывает сомнений тот факт, что высокое артериальное давление, присущее 10-15% женщин во время беременности, является неблагоприятным прогностическим фактором, резко увеличивающим вероятность осложнений и смертности как у женщины в период беременности, так и у развивающегося плода [2].

Ангиотензин-превращающий фермент (АСЕ, АПФ) превращает неактивный ангиотензин I в ангиотензин II – одно из самых мощных биологически активных веществ, повышающих артериальное давление. Артериальная гипертензия у беременных характеризуется повышением чувствительности сосудов к ангиотензину II, а также выраженной эндотелиальной дисфункцией. Высокий уровень ангиотензин-превращающего фермента может приводить к таким состояниям, как преэклампсия и эклампсия. Преэклампсия и эклампсия является одним из наиболее опасных осложнений беременности. Частота этих осложнений составляет около 6-10% беременностей [1].

Ген, кодирующий АСЕ, локализован в длинном плече 17-ой хромосомы, в локусе q23. Этот ген состоит из 21 т.п.н, содержит 26 экзонов и 25 интронов [6]. Кодировать белок массой 149,715 кДа, состоящий из 1306 аминокислот.

Известен полиморфизм гена АПФ типа I/D (insertion/deletion). Расположен в 16-м интроне и заключается в отсутствии (D – от англ. deletion) либо в наличии (I – от англ. Insertion) фрагмента Alu-повтора из 287 пар нуклеотидов – аллели I и D, генотипы II, ID, DD. В. Rigat и соавт. установили, что полиморфизм гена АСЕ влияет на содержание АПФ в крови:

у носителей генотипа DD активность АПФ выше на 14-50%, чем у носителей генотипа II. Данный полиморфизм не является структурным, но влияет на уровень экспрессии данного гена [3, 4]. Биохимическими проявлениями генотипа DD являются: максимальный уровень ферментов. Повышенное содержание ангиотензина II, низкий уровень брадикина и является фактором риска развития сердечно сосудистой патологии, осложненного течения беременности (привычного невынашивания, нарушений функции плаценты и пр.).

Цель: исследование генетической структуры по полиморфному варианту rs4646994 гена ангиотензин-превращающий фермент (АСЕ) для определения группы риска при патологии беременности.

Материалы и методы

Материалом исследования являлись образцы ДНК, полученные из цельной венозной крови 100 женщин в возрасте от 18 до 37 лет, проживающих на территории Республики Башкортостан.

Выборка была разделена на две группы: в группы с патологиями беременности составляли 50 первородящих женщин в возрасте от 18-37 лет на 5-38 неделе беременности с различными патологиями, такими как, плацентарная недостаточность, маловодие, замершая беременность, угроза потери беременности. В контрольную группу вошли 50 женщин, у которых были дети и беременность протекала без осложнений.

Геномную ДНК выделяли из цельной венозной крови методом фенольно-хлороформной экстракции [5]. Амплификация изученных локусов проводили с помощью метода ПЦР [6] на амплификаторе «Терцик» с использованием стандартных праймеров (прямой праймер (п.п.) – 5'-CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT-3', обратный праймер (о.п.) – 5'-GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT-3'). Результаты амплификации оценивались путем проведения вертикального электрофореза в 7% полиакриамидном геле [4], окрашивали бромистым этидием и идентифицировали в ультрафиолетовом свете.

С помощью статистической обработки данных был произведен анализ распределения частот генотипов и аллелей в двух группах. Для показателей проводились расчеты с распределением по Харди-Вайнбергу. Для оценки возможности случайного отклонения применили метод χ^2 , рассчитанный при помощи таблицы сопряженности 2×2.

Результаты и обсуждение

Результаты распределения частот генотипов и аллелей полиморфного локуса rs46469946 гена АСЕ для опытной и контрольной группы представлены в табл. 1.

Таблица 1

ДНК-локус	Генотипы / Аллели	Группа с патологиями беременности		Контрольная группа		p(χ^2)
		n	p, %	n	p, %	

<i>ACE</i> <i>rs4646994</i>	II	9	18	6	12	0,5754 (0,3142)
	ID	16	32	25	50	0,6462 (0,1039)
	DD	25	50	19	38	0,3147 (1,0151)
	I	34	34	37	37	0,7679 (0,0878)
	D	66	66	63	63	

В опытной и контрольной группе достоверных различий не выявлено ($p > 0,05$). Изучение распределения частот генотипов в обследованных группах показало преобладание гомозиготного генотипа DD (50% в группе с патологиями беременности) и гетерозиготного генотипа ID (50% в контрольной группе). Наиболее редко встречается генотип II (18% в группе с патологиями, 12% в контрольной).

Частоты аллелей также отличаются друг от друга, наблюдается снижение частоты аллеля *I и повышение частоты мутантного аллеля *D в группе с патологиями беременности.

Выводы

В популяционном анализе полиморфизма rs4646994 (I/D Alu) гена ACE выявлено, что частота непротективного гомозиготного генотипа D/D выше в группе с патологиями беременности, тогда как, в контрольной группе чаще встречается генотип I/D. Генотип I/I – редкий в обеих группах. Наблюдается повышение частоты мутантного аллеля D в группе с патологиями беременности.

Литература

1. **Андреева Е.Н.**, Семичева Т.В., Веснина А.Ф., Прокофьев С.А., Иванова О.Н., Карпова Е.А., Кириллов М.Ю., Дедов И.И., «Молекулярно-генетические аспекты патогенеза СПКЯ»//Ж. Проблемы репродукции, №6, 2007 год.

2. **Баранова Е.И.**, Большакова О.О. Прогностическое значение высокого артериального давления в период беременности// артериальная гипертензия том 14 №1, 2008.

3. **Булашова О.В.**, Хазова Е.В., Ослопов В.Н. Роль генетических факторов в формировании хронической сердечной недостаточности// Казанский медицинский журнал, том 94, № 3, 2013 г.

4. **Маниатис Т.**, Фрича Э., Сэмбрука Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование// перевод с англ. под ред. Бабаева А.А., Скрябина К.Г., М.: Мир, 1984. – 480 с., ил

5. **Mathew C.C.** The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA // Methods in molecular biology N.Y. 1984 V. 2. P. 31-34.

6. **Mullis K.B.** Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia // K. B. Mullis, R. K. Saiki, S. Scharf et al.// Science. – 1985. – V. 230. – N 4732. – p. 487-491.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ МЕЖСОРТОВЫХ ОТЛИЧИЙ РОДА *CITRUS*.

Гильмаева А. В., Филиппова Д.С., Абрамов С. Н., Горбунова В. Ю.

ФГБОУ ВО «БГПУ им.М. Акмуллы», г. Уфа

Садыкова Ф.В.

к.б.н., заведующий, Учебно-опытное хозяйство ГБОУ СПО «Уфимский лесхоз-техникум»

Ключевые слова: *Citrus limon*, RAPD-анализ, сортотип, филогения.

Краткая аннотация. Задачей данного исследования являлось выявление молекулярно-генетической гетерогенности изучаемых сортов *C. limon*: Фахретдинов-1 («Юбилейный»), Фахретдинов-2 («Ташкентский»), Салават, Урман и Лейсан, с помощью RAPD-анализа.

В результате было установлено, что каждый из сортов имеет свой определенный спектр амплифицируемых RAPD-продуктов, отличающийся от других количеством фрагментов, их размером и степенью выраженности.

Было показано отсутствие различий между сортами Лейсан, Урман, Салават, но выявлены отличия от предполагаемых родительских форм по локусам *FLS*, *ACO*, *PKF*, *SOS1*, *Cin4a*, *Hbr*, *En1a*, *BARE1* (Юбилейный и Ташкентский). Также в работе показаны различия сортов Лейсан, Салават, Урман по локусам *BrSTFf2a-gag*, *BoSTF*, *Isaak*, *CCC1*, *LAPX*, *PIP1*.

Некоторые праймеры выявили присущие только одному конкретному сорту ампликоны и, следовательно, являются специфичными: для сорта Лейсан в локусах *LAPX*, *BoSTF*, *BrSTFf2a-gag*, для сорта Урман в локусе *BrSTFf2a-gag*, для сорта Ташкентский в локусе *En1a*, для сорта Юбилейный в локусе *Hbr*.

Введение. Известно, что основными источниками формообразования в эволюции цитрусовых и близких к ним родов подтрибы *Citrinae Swingle* являются спонтанная, а в последние десятилетия и индуцированная гибридная и мутационная (генеративная, соматическая) изменчивость и, контролируемые естественным и искусственным отбором и закрепляемые при вегетативном размножении прививкой, а при семенном – агамоспермией [1]. Также следует упомянуть полиэмбрионию и апомиксис, все эти явления способствуют тому, что вследствие искусственного отбора, среди растений выделяются новые сорта, формы, которые отличаются от исходного сорта по ряду признаков. По этой причине ранее описанные разными систематиками формы и сорта цитрусовых далеко не идентичны с теми, которые в настоящее время выращиваются на плантациях и встречаются в коллекциях [2].

Таким образом, классификация цитрусовых затруднена, особенно на такие таксоны как, экотип, сортотип [2] .

Филогения рода *Citrus* и близких к нему родов подсемейства *Aurantioideae Engler* и их эволюция до стадии современного варианта нашли отражение в их генотипе и обусловили их сложную генетическую структуру и большую наследственную изменчивость, а также характер широты их приспособленности к внешним условиям, к варьирующим погодным и климатическим разностям их ареала [1].

Основное число хромосом родов подтрибы *Citrinae Swingle*, как и других родов *Aurantioideae Engler*, обычно равно $n=9$, все виды цитрусовых и родственных родов - диплоиды ($2n=18$). Тетраплоиды и триплоиды встречаются редко как отклоняющиеся типы у ряда форм цитрусовых и родственных им родов. В связи с этим виды рода *Citrus* легко скрещиваются между собой, а также с представителями *Poncirus Raf.*, *Fortunella Swingle*, *Microcitrus Swingle*, *Eremocitrus Swingle* и других родов подтрибы *Citrinae Swingle*. Тем самым обеспечивая появление и развитие новых сортов, даже видов. Помимо этого, громадное разнообразие цитрусовых и до некоторой степени, близких к ним родов, является продуктом спонтанной мутационной изменчивости, контролируемой естественным и искусственным отбором [3, 4].

В процессе культивирования важным является вопрос генетической стабильности сортов, поэтому **целью исследования** явилась идентификация молекулярно-генетических основ межсортовых отличий вида *Citrus limon*. **Задачей** - выявление молекулярно-генетической гетерогенности изучаемых сортов *C. limon*: Фахретдинов-1 («Юбилейный»), Фахретдинов-2 («Ташкентский»), Салават, Урман и Лейсан, с помощью RAPD-анализа.

Материалы и методы. Работа проводилась в лаборатории биотехнологии и цитогенетики БГПУ им. М. Акмуллы.

Материалом являлись молодые листья сортов лимона Юбилейный, Ташкентский, Салават, Урман и Лейсан, предоставленные руководителем Лимонария Учебно-опытного хозяйства ГБОУ СПО "Уфимский лесхоз-техникум" Садыковой Ф. В.

Выделение тотальной ДНК из растительного материала проводили методом солевой экстракции по стандартной методике.

В последние годы для изучения генетических связей у растений, межвидовой и внутривидовой идентификации широко используется метод маркирования генетического материала путем амплификации ДНК с произвольными праймерами (RAPD-PCR) [5].

В работе использовали 18 праймеров длиной от 20 до 23 нуклеотидов. Описание праймеров приведено в таблице.

Таблица 1

№	Праймер	5'-3' последовательность	Ген	Биосинтетический путь	GenBank accession no.
Олигонуклеотиды на основе ключевых генов метаболических путей					

1	FLS	GGAGGTGGAGAGGGTC CAAG	Flavonol synthase	Флавоноиды	AB011796
2	MDH	ATGGCCGCTACATCAG CTAC	Malate dehydrogenase	Кислоты	DQ90143 0
3	ACO	AAGCCATGGGTCAAAA CAAG	Aconitase	Кислоты	AF073507
4	PKF	CGCCGACCTCAGTCCC GTC	Phosphofruktok inase	Сахара	AF095520
5	HYB	AGCCCTTCTGTCTCCTC ACA	b-Carotene hydroxylase	Каротины	AF315289
6	LAPX	GCCCTCCGGTAACTTC AAC	Ascorbate peroxidase	Метаболизм альдарата и аскорбата	EU719653
7	MRP4	CCGATCGGTTGGCATA CTC	MRP-like ABC transporter	Клеточная детоксифика ция	CD574223
8	CCC1	GCAGCTTGCTACCTAC ATTGAC	Cation chloride cotransporter	Клеточная детоксифика ция	FN662480
9	PIP1	GACACTCGGCCTGTTC TTG	Aquaporin PIP1A	Солевая толерантнос ть	CK938271
10	SOS1	CCAATTAGCACCTCAT AGAGAC	Salt overly sensitive 1	Солевая толерантнос ть	DN95947 8
Транспозируемые элементы					
11	Cin4a	AACCGCTGCTGCAAGG AGTCAA	1 class		
12	Isaak	ATAGGGTGCGATTCCG GTAGTG	2 class		
13	BARE1	CTAGGGCATAATTCCA ACAA	1class (LTR)		
14	BoSTF	CACCTGTTCGTCGAGA ATCTAGAAG	1 class, Ty3- gypsy group		
15	En1a	GCACGACGGCTGTAGA ATAGGA	2 class		
16	BrSTFf2a- gag	CATCTTCTTGCAAAC TGAACCGC	1 class, Ty1- copia group		
17	Hbr	GATTCTCCCCACAGCC AGATTC	2 class		
18	Koo7	TAGCACGATATTGTCC GCTTTGG	2 class		

Аmplified fragments were fractionated in 1,0 % agarose gels, which were stained with ethidium bromide.

Results and discussion. For RAPD-PCR, 18 primers and 90 samples were analyzed to obtain molecular spectra of amplified DNA fragments for studying genetic variability of *C. limon* cultivars.

Molecular-genetic analysis provides the opportunity to identify specific genomic markers that can be used for genotyping. It is shown that the method of molecular genome marking based on RAPD-PCR allows to determine taxonomic status of representatives of the species and to establish phylogenetic relationships between representatives of the species. Targeted use of species-specific primers will allow researchers to reduce labor and resources necessary for analysis of collection samples.

Thus, it can be said that the smaller the common products of amplification of studied cultivars, the greater the genetic distance between them.

The conducted RAPD-PCR analysis showed that there are interspecific differences both between new cultivars and between them and presumed parental forms. Differences between cultivars *Leyсан*, *Салават*, *Урман* in loci *BrSTFf2a-gag*, *BoSTF*, *Isaak*, *CCC1*, *LAPX*, *PIP1*.

Specific primers for cultivars *Leyсан* – amplicon of length 1890 bp in locus *LAPX*, and amplicon of length 900 bp, 1490 bp, 1700 bp in locus *BoSTF*. For cultivar *Ташкентский* amplicon of length 800 bp in locus *En1a*, for cultivar *Юбилейный* amplicon of length 1900 bp in locus *Hbr*.

Full correlation was observed in molecular spectra of amplicons in loci *MDH*, *НУВ*, *MRP4*, *Кoo7*.

LITERATURE

1. Витковский В.Л., Самоладос Т.Х., Коровина О.Н., Карая Р.К. Культурная флора. Т. 24. Цитрусовые культуры. СПб.: ВНИИР, 1998. - 415 с.
2. Витковский В.Л. Плодовые растения мира. СПб.: Изд-во «Лань», - 2003.-592 с.
3. Swingle W.T., Reece P. C. The botany of Citrus and wild relatives. Los Angeles. 1967. Vol. LP. 190-430.
4. FAO Citrus Fruit Production. Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, FAOSTAT, 2009.
5. Williams M.E., Westermann C.D., Swerdlow S.H. Genotypic characterization of centrocytic lymphoma: Frequent rearrangement of the chromosome 11 bcl-1 locus. Blood, 1990, 76, N 7, 1387-1391.

МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ *IN VITRO* КАК МЕТОД СОХРАНЕНИЯ СОРТОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ *CITRUS*.

Гильмаева А. В., Филиппова Д.С., Абрамов С. Н., Горбунова В. Ю.

ФГБОУ ВО «БГПУ им.М. Акмуллы», г. Уфа

Садыкова Ф.В.

к.б.н., заведующий, Учебно-опытное хозяйство ГБОУ СПО «Уфимский лесхоз-техникум»

Ключевые слова: *Citrus limon*, индолилуксусная кислота, нафтилуксусная кислота, дихлорфеноксиуксусная кислота, 6-бенизиламинопурин.

Краткая аннотация. Микроразмножение растений в культуре *in vitro* в настоящее время является наиболее эффективным способом их коммерческого воспроизводства и одним из путей сохранения растительного биоразнообразия. Кроме того, широкое использование микроклонирования требует оптимизации отдельных его этапов, а именно фитогормонального состава питательных сред [1].

В результате были определены оптимальные концентрации фитогормонов в питательных средах для индукции каллусогенеза и последующего морфогенеза в культурах сортов лимона, нами также отмечена неэффективность использования 2,4-Д.

Введение. Лимон (*C. limon*) – один из наиболее ценных видов рода *Citrus*, пользующийся большим потребительским спросом на рынке. Распространению цитрусовых способствовала урожайность и высокие вкусовые качества плодов, которые также имеют в своем составе сахара, органические кислоты (лимонную, аскорбиновую, яблочную), ряд витаминов, биологически активные вещества и минеральные соли. Кожура плодов и листья являются источником эфирных масел. К тому же цитрусовые высоко ценятся как декоративные растения [2, 3].

Несмотря на то, что за рубежом работы по оптимизации протоколов культивирования цитрусовых *in vitro* многочисленны, до сих пор так и не удалось разработать эффективную методику микроразмножения сортового материала в культуре вегетативных почек *in vitro* [3, 4]. В связи с этим возникает актуальный вопрос разработки и оптимизации надежных приемов сохранения взрослых (неювенильных) тканей, а также изучение органогенного потенциала различных типов эксплантов в условиях *in vitro*.

Оптимизация приемов клонального микроразмножения цитрусовых позволит создать и поддерживать резервную коллекцию, сохранить на небольших производственных площадях накопленный генофонд для дальнейшего использования в селекционных и практических целях [4, 5].

Цель исследования: оптимизировать условия культивирования *C. limon in vitro*.

Задачей данного исследования являлся количественный подбор концентраций регуляторов роста в питательной среде для культивирования *in vitro* сортов *C. limon*: Фахретдинов-1 («Юбилейный»), Фахретдинов-2 («Ташкентский»), Салават, Урман и Лейсан. В качестве культуральной использовали наиболее часто рекомендуемую для культуры растительных тканей агаризованную питательную среду с минеральной основой по Т. Мурасиге и Ф. Скугу (MS). Исследовали влияние цитокининов: индолилуксусной кислоты (ИУК), нафтилуксусной кислоты (НУК), дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д), и ауксинов: 6-бензиламинопурина (6-БАП), на культуры *in vitro* сортов лимона.

Материалы и методы. Работа проводилась в лаборатории биотехнологии и цитогенетики БГПУ им. М. Акмуллы. Для изучения процессов морфогенеза в качестве исходного материала были взяты пазушные почки лимонов сортов Фахритдинов-1 («Юбилейный»), Фахретдинов-2 («Ташкентский»), Салават, Урман и Лейсан, которые были предоставлены нам руководителем тепличного хозяйства («Лимонария») ГБОУ СПО «Уфимский лесхоз-техникум» Садыковой В.Ф..

Перед изолированием эксплантов черенки нарезали на сегменты: пазушные почки длиной 0,5 см и стебли длиной 0,5 см, которые стерилизовали по стандартным методикам [6]. Инокулировали экспланты надсеченной стороной на питательную среду.

Для приготовления питательных сред использовали реактивы высокой степени очистки (квалификация не ниже «чда»).

Культивирование эксплантатов проводилось на питательной среде Murashige, Skoog [7] по стандартной прописи [8].

Высаженный материал культивировался при естественном освещении, при 22°C и относительной влажности 70-80 %.

Высаженный материал культивировался при естественном освещении при 22 - 24°C и относительной влажности 70-80 %.

На этапе введения в культуру *in vitro*

Оптимизацию концентрации фитогормонов для культивирования проводили методом подбора различных концентраций фитогормонов: в качестве цитокинина использовали 6 – бензиламинопурина (6-БАП), 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту, в качестве ауксинов – индолилуксусную кислоту (ИУК) и нафтилуксусную кислоту (НУК).

Результаты и обсуждение. Было опробовано 45 вариантов питательной среды MS, различающихся по концентрации ИУК/6-БАП, НУК/6-БАП, 2,4-Д/6-БАП, ИУК/2,4-Д, представленные в таблицах 1 – 5.

Оценка эффективности морфогенеза в культуре *in vitro* производилась на 23-25-е сутки после инокуляции эксплантов на питательную среду.

Частоту индукции каллусогенеза/морфогенеза определяли, как число полученных культур с появлением признаков каллусогенеза/морфогенеза к числу инокулированных эксплантов × 100%.

Результаты представлены в таблицах 1 – 5.

Таблица 1

Соотношение фитогормонов (ИУК и 6-БАП) в средах для индукции морфогенеза в культурах пазушных почек сорта Урман (мг/л)

ИУК \ 6-БАП	0,5	1,0	1,5	1,75	2,0	2,25	2,5	2,75	3,0
0,5	0	0	0	10**	0	0	0	0	0
1,0	0	10**	0	0	10**	10**	0	10**	0
1,5	0	0	0	0	0	0	0	0	33*
1,75	0	0	0	10**	0	0	0	0	0
2,0	0	0	0	0	0	0	10**	0	0

* частоту индукции морфогенеза гена определяли как число полученных культур с появлением признаков морфогенеза к числу инокулированных эксплантов Ч×100%;

**отмечен процент каллусогенеза.

Таблица 2

Соотношение фитогормонов (2,4-Д и 6-БАП) в средах для индукции морфогенеза в культурах пазушных почек сорта Лейсан (мг/л)

ИУК \ 6-БАП	0,5	1,0	1,5	1,75	2,0	2,25	2,5	2,75	3,0
0,5	0	10**	0	0	10**	0	0	10**	0
1,0	0	10**	0	0	10**	0	0	0	0
1,5	0	90*	0	0	0	0	0	0	0
1,75	0	0	10**	0	0	0	0	0	0
2,0	0	0	0	0	0	0	10**	10**	0

*частоту индукции морфогенеза гена определяли как число полученных культур с появлением признаков морфогенеза к числу инокулированных эксплантов Ч×100%;

**отмечен процент каллусогенеза.

Таблица 3

Соотношение фитогормонов (ИУК и 6-БАП) в средах для индукции морфогенеза в культурах пазушных почек сорта Салават (мг/л)

ИУК \ 6-БАП	0,5	1,0	1,5	1,75	2,0	2,25	2,5	2,75	3,0
0,5	0	0	0	0	10*	10*	0	0	0
1,0	0	0	0	0	10*	0	0	0	0
1,5	0	0	0	0	0	0	0	10*	40
1,75	0	0	10*	0	0	0	0	0	10*
2,0	0	0	10*	0	0	0	0	0	0

** частоту индукции геммогенеза (определяли как число полученных культур с появлением признаков морфогенеза к числу инокулированных эксплантов Ч ×100%);

**отмечен процент каллусогенеза.

Таблица 4

Соотношение фитогормонов (ИУК и 6-БАП) в средах для индукции морфогенеза в культурах пазушных почек сорта Ташкентский (мг/л)

ИУК \ 6-БАП	0,5	1,0	1,5	1,75	2,0	2,25	2,5	2,75	3,0
0,5	0	40	0	10**	0	40	0	0	0
1,0	0	50	0	10**	0	0	0	0	0
1,5	0	0	10**	0	0	0	0	0	0
1,75	0	0	10**	0	10**	0	0	0	0
2,0	0	0	10**	10**	0	0	0	0	0

* частоту индукции геммогенеза определяли как число полученных культур с появлением признаков морфогенеза к числу инокулированных каллусов $Ч \times 100\%$;

**отмечен процент каллусогенеза.

Таблица 5

Соотношение фитогормонов (ИУК и 6-БАП) в средах для индукции морфогенеза в культурах пазушных почек сорта Юбилейный (мг/л)

ИУК \ 6-БАП	0,5	1,0	1,5	1,75	2,0	2,25	2,5	2,75	3,0
0,5	0	0	10**	10**	20	50	0	0	0
1,0	0	0	50*	0	0	10**	0	0	0
1,5	10**	0	0	0	0	0	0	0	0
1,75	10**	0	0	10**	0	10**	0	0	0
2,0	0	0	0	0	0	0	0	10**	0

* частоту индукции геммогенеза определяли как число полученных культур с появлением признаков геммогенеза к числу инокулированных каллусов $Ч \times 100\%$;

**отмечен процент каллусогенеза.

Таким образом, с целью получения растений-регенерантов лимона, и сохранения их в культуре тканей предлагается следующая последовательность операций.

Молодые побеги освободить от листьев, промыть с хозяйственным мылом и в проточной воде в течение 30 минут. Затем в стерильных условиях обработать побеги 0,1% перекиси водорода 5 – 7 мин, с последующей трехкратной промывкой стерильной дистиллированной водой. Сегменты побегов длиной 0,5 см с почкой помещаются вертикально на питательную среду – МС + сахароза 25,0 г/л + агар 7,0 г/л. Культивирование при световом режиме 16/8 – 5 клк, $t + 22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ до получения микропобегов.

Среди проанализированных концентраций фитогормонов ИУК, 2,4-Д, НУК и БАП эмпирическим путем были выявлены оптимальные соотношения для индукции морфогенеза культуре *in vitro* *C.Limon* концентрации фитогормонов в питательной среде МС.

Для индукции морфогенеза сорта Урман: МС + 1,5 мг/л БАП + 3,0 мг/л ИУК, для каллусогенеза - МС + 1,0 мг/л БАП + 2,0 мг/л ИУК

Для индукции морфогенеза сорта Лейсан, МС + 1,5 мг/л БАП + 3,0 мг/л ИУК, для каллусогенеза МС + 1,75 мг/л БАП + 1,5 мг/л ИУК

Для индукции морфогенеза сорта Салават, МС + 1,5 мг/л 6-Бап + 3,0 мг/л НУК, для каллусогенеза 1,5 мг/л 6 – БАП + 2,75 мг/л ИУК

Для индукции морфогенеза сорта Ташкентский, МС + 1,5 мг/л БАП + 1,5 мг/л НУК, для каллусогенеза МС + 1,0 мг/л 6-Бап + 1,0 мг/л НУК

Для индукции морфогенеза сорта Юбилейный МС + 1,0 мг/л 2,4 – Д + 1,5 мг/л ИУК, для каллусогенеза МС + 1,0 мг/л БАП + 1,5 мг/л НУК.

ЛИТЕРАТУРА

6. Шумихин С.А. Оптимизация отдельных этапов микроклонального размножения георгины культурной: стерилизация эксплантов//Вестн. Перм. Ун-та, 2004. Вып. 2 Биология. – 61-63 с.
7. Самарина Л.С. Оптимизация приемов микроразмножения и сохранения лимона *in vitro*. //автореф. диссер. к.б.н.-М.:2013, - 23 с.
8. Самарина Л.С., Коломиец Т.М, Горшков В.М.. Биотехнология цитрусовых культур: перспективы и достижения. // Садоводство и виноградарство – 2010 - № 5.
9. Almeida W.A.V. de, Mourao Filho F. de A.A., Mendes V.M.J. et al. In vitro organogenesis optimization and plantlet regeneration in *Citrus sinensis* and *C. limonia* // Sci. Agr. – 2002, 59. – P. 35-40.
10. Ballester A., Cervera M., Pena L. Efficient production of transgenic citrus plants using isopentenyl transferase positive selection and removal of the marker gene by site-specific recombination // Plant Cell Rep. – 2007, 26. – P. 39-45.
11. Шевелуха В.С., Калашникова Е.А., Воронин Е.С. и др. Сельскохозяйственная биотехнология. - Учебник. М.: Высшая школа, 2003. - 469 с.
12. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture//Physiol. Plant. 1962. V. 15. N 13. P. 473-497.
13. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: Учеб. пособие.- М.: ФБК-ПРЕСС, 1999.- 160 с.

АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ-ОНКОСУПРЕССОРОВ *RB*, *ING1* ПРИ ОНКОПАТОЛОГИИ

Губаева Ю.Г., Горбунова В.Ю., Воробьева Е.В.

ФГБОУ ВО «БГПУ им.М.Акмиллы», г.Уфа

Ключевые слова: канцерогенез, онкосупрессор, клеточный цикл, полиморфизм

Краткая аннотация. Проведено исследование распределения частот генотипов и аллелей по полиморфизму *rs137853294 (C/G)* гена *RB* в *rs121909250 (C/G)* гена *ING1* у 380 человек. В ходе исследования установлено достоверное ($p < 0,05$) повышение частот генотипов *GG (rs137853294, RB)* и *GG (rs121909250, ING)*.

Введение. Онкологические заболевания являются одной из основных причин заболеваемости и смертности во всем мире. По данным Всемирной организации здравоохранения, каждый год от онкологических заболеваний в мире умирают более 7,5 млн человек. В России на конец 2014 г. на учете в онкологических учреждениях состояли более 3,0 млн больных. Каждую минуту ставится один онкодиагноз. За последние 10 лет число онкологических больных в стране увеличилось на 25,5%. Таким образом, увеличивается общее число заболеваний раком, и с каждым годом учащаются случаи заболевания раком среди молодежи.

Изучение процесса канцерогенеза является ключевым моментом как для понимания природы опухолей, так и для поиска новых и эффективных методов лечения онкологических заболеваний. Одной из причин канцерогенеза является перерождение клеточного цикла.

Обширные исследования последних лет позволили обнаружить множество генов (*BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *ATM*, *RAD51*, *P21*, *RB* и др.), контролирующих клеточный цикл, а мутации в этих генах приводят к срыву регуляторных механизмов контроля клеточного цикла и провоцируют злокачественное перерождение клеток и их активную пролиферацию [1]. Одними из значимых генов-онкосупрессоров являются гены *RB* и *ING1* ввиду широкого спектра выполняемых функций в процессах поддержания целостности генома и генетической стабильности клетки. Продукты этих генов непосредственно участвуют в контроле клеточного цикла, и каждый из них контролирует определённую фазу цикла [5,6]. Изменение их функциональной активности ведет к накоплению повреждений ДНК и увеличению вероятности злокачественного перерождения клетки [2].

Исходя из этого **целью работы** явился анализ наследования аллельных вариантов генов-онкосупрессоров при онкопатологии с последующей превенцией.

Материалы и методы. В работе использованы образцы ДНК 380 человек проживающих в Республике Башкортостан. Из них 200 здоровых индивидов без мутации в гене *TP53* и 180 онкологических больных, находившихся на стационарном лечении в ГБУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер» МЗ Республики Башкортостан. Группа контроля формировалась, таким образом, неслучайно, так как доказано, что «рисковые» аллели гена *TP53* обнаруживаются с частотой от 50 до 86% при различных онкопатологиях.

Генотипирование проводили с использованием метода ПЦР-ПДРФ. Размеры продуктов амплификации и последующей рестрикции детектировали в 7 % ПААГ.

Статистическую обработку данных проводили с использованием критерия Стьюдента. Различия между параметрами считались статистически достоверными при $p < 0,05$. Для определения статистических параметров использовались программы MS Excel и Statistica 6.0. При анализе межгенных взаимодействий использовали метод моделирования ген-генных и ген-средовых взаимодействий с помощью непараметрической программы MDR - Multifactor-Dimensionality Reduction.

Результаты и обсуждение. В результате попарного сравнения по полиморфному локусу *rs137853294(C/G)* гена *RB* было выявлено статистически значимое повышение частоты гетерозиготного генотипа *CG* в группе здоровых индивидов ($p=0,0005$, $\chi^2=30,19$). В группе онкобольных выявлено статистически значимое повышение гомозиготного генотипа *GG* и аллеля **G* ($p=0,0005$, $\chi^2=28,99$ и $p=0,004$, $\chi^2=8,68$ соответственно). Согласно литературным данным, повышение частоты генотипа *GG* у онкобольных связано со снижением способности к взаимодействию и активации транскрипции генов-мишеней, а также низкой эффективностью апоптоза [3].

В результате анализа по полиморфному локусу *rs121909250(C/G)* гена *ING1* было выявлено статистически значимое частоты гетерозиготного генотипа *CG* и аллеля **C* в группе здоровых индивидов ($p=0,0005$, $\chi^2=66,3$ и $p=0,0005$, $\chi^2=106$ соответственно). В группе онкобольных выявлено статистически значимое повышение гомозиготного генотипа *GG* и аллеля **G* ($p=0,0005$, $\chi^2=136,6$ и $p=0,0005$, $\chi^2=106$ соответственно). Согласно литературным данным, аллель **G* приводит к разрыву трехмерной структуры белка, и как следствие снижает эффективность апоптоза [4].

Также был проведен генеалогический анализ семей с различным онкологическим анамнезом. Результаты семейного анализа соответствуют литературным данным и говорят о том, что эти гены наследуются совместно и согласно классическим генетическим законам. Но анализ неравновесия по сцеплению не выявил сцепления между локусами гена *RB* (*rs137853294*) и *ING1* (*rs121909250*) ($D'=0,15$). В группе онкобольных определено слабое сцепление между этими генами, D' -коэффициент которых составил 0,36.

В результате гаплотипического анализа было выявлено, что в группе здоровых индивидов достоверно чаще встречается гаплотип **C/*C* ($p=0,0006$,

$\chi^2=17,24$), сочетающий только протективные аллели. У онкобольных преобладает гаплотип **G/*G*, сочетающий только рисковые аллели ($p=0,0005$, $\chi^2=19,75$) по полиморфным локусам генов *RB* (*rs137853294*) и *ING1* (*rs121909250*) соответственно. Таким образом, можно предположить, что носители протективных аллелей по генам *RB* и *ING1* являются здоровыми за счет нормального функционирования самих белков.

В основе генетической предрасположенности к многофакторным заболеваниям лежат сложные взаимосвязи различных генетических систем. С целью выявления особенностей совместной работы генов, было проведено моделирование ген-генных взаимодействий для трех полиморфных локусов в генах системы онкосупрессии. Анализ межгенных взаимодействий показал, что между генами синергичное взаимодействие, то есть работают совместно друг с другом при развитии онкопатологии. Процентное соотношение на вершинах указывает на вклад в развитие онкопатологии вносит каждый из генов.

Анализ сочетаний генотипов двух генов выявил значимые различия между исследованными группами. Так, сочетания *CG/GG*; *GG/GG* ($p=0,0005$, $\chi^2=26,11$; $p=0,0005$, $\chi^2=34,59$ соответственно) по полиморфным локусам генов *RB* и *ING1* достоверно встречаются у онкобольных, а у здоровых чаще встречались сочетания генотипов *CG/CG* ($p=0,005$, $\chi^2=49,22$).

Таким образом, инактивация *RB* ослабляет работу сверхочной точки G1, не влияя на G2, и не блокируя *ING1*. Одновременная модификация белков *ING1* и *RB* приводит к срыву механизмов контроля в регуляции клеточного цикла. Полученные результаты позволяют говорить о ключевой роли аллельного состояния генов системы онкосупрессии в формировании риска злокачественной трансформации клетки.

Литература

1. Клаг У. , М. Каммингс. Контроль клеточного цикла//«Основы генетики» - М: Техносфера, 2009.-С.58-59.
2. Копнин Б.П. Опухолевые супрессоры и мутаторные гены// Российский онкологический научный центр им.Н.Н.Блохина РАМН, Москва,2005
3. Dietmar R. Lohmann, Martin Gerick, Birgit Brandt, Ulrich Oelschlaeger, Birgit Lorenz. Constitutional RB1 -Gene Mutations in Patients with Isolated Unilateral Retinoblastoma. Am. J. Hum. Genet. 61:282-294, 1997
4. Garkavtsev I, Boucher Y. An intact ING1-P53 pathway can potentiate the cytotoxic effects of taxol. Cancer Biol Ther. 2005;4:48–49. [PubMed]
5. Garkavtsev, I.V., Kley, N., Grigorian, I.A., Gudkov, A.V. (2001) Oncogene, 20, 8276–8280.
6. Knudson A.G. Jr. «Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma», rocNatI AcadSci U S A. 68:, 1971,820—823.

АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ТРИПТОФАНГИДРОКСИЛАЗЫ (*TRH*) И РЕЦЕПТОРА СЕРОТОНИНА 2А С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ТРЕВОЖНОСТИ У СТУДЕНТОВ

Давыдова Ю.Д., Гумерова О.В.

ФГБОУ ВО «БГПУ им. М. Акмуллы», г.Уфа

Ключевые слова: рецептор, серотонин, триптофангидроксилаза, полиморфизм, тревожность.

Краткая аннотация. Проведена оценка роли полиморфных вариантов генов серотонинергической системы, ответственных за биосинтез (*TRH1*, *TRH2*) и рецепцию (*5-HTR2A*) серотонина, в выборке студентов с различным уровнем тревожности. Обнаружены статистически значимые двухфакторные модели взаимодействия ДНК-локусов, ассоциированные с высокими и низкими показателями тревожности.

Введение. Понимание механизмов нормального и патологического поведения человека представляет собой одну из актуальных проблем современной нейробиологии и медицины. Тревожность наряду с депрессией является одним из распространенных психических расстройств и значительно снижает качество жизни [1]. Тревожность определяет как эмоциональную устойчивость студента, так и мотивацию, и нацеленность на успех [2].

Одной из ключевых проблем нейрогенетики является выявление пути от гена к поведению. Не вызывает сомнения, что ключевая роль в этом пути принадлежит основным регуляторам поведения – нейромедиаторам головного мозга. Гены, вовлеченные в регуляцию синаптической передачи, в настоящее время рассматриваются как гены-кандидаты, которые обуславливают наследственные особенности поведения. Одним из классических нейромедиаторов мозга, который регулирует различные виды поведения, в том числе и тревожное поведение, является серотонин [1]. Ключевым ферментом биосинтеза серотонина является триптофангидроксилаза (*TRH*), которая катализирует гидроксирование триптофана с образованием 5-гидрокситриптофана, который в дальнейшем декарбоксилируется ферментом триптофандекарбоксилазой до серотонина [3]. Из пресинаптической терминали серотонин выделяется в синаптическую щель, где он действует на белковые рецепторы (*5-HTR*) другого нейрона. Затем серотонин переносится назад в клетку, где он был синтезирован, белковым переносчиком серотонина или же он разлагается в межклеточном пространстве под действием моноаминоксидазы. Изменения в любом из звеньев этого процесса могут повлиять на активность серотонинергической системы в целом [4].

Исследования, проводившиеся в последнее десятилетие, демонстрируют возрастающее внимание к психогенезу и роли тревожных

расстройств в различных аспектах психического развития и формирования личности. Другими словами, весьма актуальным является изучение нейромедиаторных систем, выявление генов-кандидатов, вовлечённых в регуляцию эмоциональной сферы человека, а также разработка адекватных мер профилактики и коррекции.

Целью работы явилось исследование аллельных вариантов генов, отвечающих за биосинтез (*TPH1* и *TPH2*) и рецепцию (*5-HTT2A*) серотонина, в выборке студентов с различным уровнем тревожности.

Материалы и методы. В исследовании приняло участие 224 студента естественно-географического факультета Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы в возрасте от 17 до 22 лет на добровольной основе.

Оценку уровня тревожности проводили с помощью методики Ч.Д. Спилбергера в адаптации Ю.Л. Ханина. Методика включает 2 части по 20 вопросов каждая. Первая часть определяет уровень ситуативной тревожности (СТ), вторая – личностной тревожности (ЛТ). Результаты диагностики обрабатываются по ключу. Затем подсчитывается сумма баллов по каждой шкале. Полученная сумма позволяет судить об уровне тревожности: до 30 баллов – низкий уровень тревожности; 31-44 баллов – умеренный уровень тревожности; 45 и более баллов – высокий уровень тревожности [5].

Выделение ДНК проводилось с помощью метода фенольно-хлороформной экстракции [6].

Анализ полиморфных вариантов генов *TPH1*, *TPH2* и *5-HTT2A* проводили с помощью рестрикционного анализа продуктов амплификации.

Условия проведения ПЦР. Амплификацию проводили в растворе объемом 10,2 мкл, содержащем 1,5 мкл ПЦР-mix, 3,5 мкл , 4 мкл праймеров, 1,2 мкл ДНК. Полиморфные варианты анализируемых ДНК-локусов, последовательности праймеров и номенклатура аллелей представлены в таблице 1. Размеры продуктов амплификации и последующей рестрикции исследовали с помощью электрофореза в полиакриламидном геле.

Таблица 1

Полиморфные варианты, последовательности праймеров и номенклатура аллелей анализируемых ДНК-локусов

Ген (локализация), полиморфизм	Праймеры (5' -> 3') и рестриктаза	Аллели, п.о.
<i>TPH1</i> (11p15.1), <i>A218C</i>	F: TTC AGA TCC CTT CTA TAC CCC AG R: GGA CAT GAC CTA AGA GTT CAT GGC A рестриктаза <i>NheI</i>	*A – 918 *C – 615+245+58
<i>TPH2</i> (12q21.1),	F: GCA TAG AGG CAT CAC AGT A R: AAG CTT TTT CTG ACT TGA CAA T	*G – 91+22 *T – 113

<i>G-703T</i>	рестриктаза <i>AcsI</i>	
<i>5-HTR2A</i> (13q14-21), <i>A-1438G</i>	F: AAG CTG CAA GGT AGC AAC AGC R: AAC CAA CTT ATT TCC TAC CAC гестриктаза <i>MspI</i>	*A – 468 *G – 244+224

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного обеспечения MS Excel 2013 (Microsoft), таблиц сопряженности 2x2 (с поправкой Йэйтса) и критерия Х².

Результаты и обсуждение. Было проведено добровольное тестирование студентов по методике самооценки уровня тревожности Ч.Д. Спилбергера и Ю.Л. Ханина. В общей выборке по шкале ситуативной тревожности средние показатели встречались с частотой 67,28%, высокие показатели с частотой 22,84%, низкие – 9,88%. По шкале личностной тревожности средние показатели выявлены у 58,39% испытуемых, высокие показатели – у 34,16% испытуемых, низкие – 7,45%.

При молекулярно-генетическом анализе полиморфных локусов распределение частот генотипов и аллелей в исследованной выборке было следующим:

- по гену *TPH1* генотип *A/*A встречался с частотой 24,18%, *A/*C – 42,85%, *C/*C – 32,97%, аллель *A – 45,60%, а аллель *C – 54,40%;
- по гену *TPH2* генотип *G/*G – 29,79%, *G/*T – 63,83%, *T/*T – 6,38%, аллель *G встречался с частотой 61,70%, а аллель *T – 38,30%;
- по гену *5-HTR2A* генотип *A/*A встречался с частотой 30,10%; *A/*G – 45,63%, *G/*G – 24,27%, частота аллеля *A – 52,91%, *G – 47,09%.

Для проведения анализа полиморфных локусов исследуемых генов вся выборка была разделена на 3 группы в соответствии с показателями тревожности [5]. Ситуативная и личностная тревожность анализировались отдельно.

При попарном сравнении частот генотипов и аллелей по полиморфному маркеру *A218C* гена *TPH1* между группами с низкими и средними, а также со средними и высокими показателями тревожности статистически значимое различие не установлено. Во всех случаях уровень значимости *p* был выше критической отметки. Достоверное статистически значимое различие установлено для распределения аллелей при сравнении групп с низкими и высокими показателями ситуативной тревожности. Частота аллеля *A выше в группе со высокими показателями (54,55%), в то время как частота аллеля *C выше у лиц с низкими показателями (73,08%) (табл.2).

Таблица 2

Распределение частот генотипов и аллелей маркера *A218C* гена *TPH1* в группах с низкими и высокими показателями тревожности

Шкала		Генотипы (частота, %±m)			Аллели (частота, %)	
СТ	Состояние	*A/*A	*A/*C	*C/*C	*A	*C
	низкий	7,69±7,39	38,46±13,49	53,85±13,82	26,92	73,08
	высокий	31,82±13,86	45,45±10,61	22,73±7,82	54,55	45,45
		1,5031	0,0030	2,2672	3,9968*	
p		0,2211	0,9605	0,1325	0,0457*	
ЛТ	Состояние	*A/*A	*A/*C	*C/*C	*A	*C
	низкий	16,67±15,21	16,67±15,21	66,66±19,24	25,00	75,00
	высокий	35,29±8,19	38,24±8,33	26,47±7,56	53,73	46,27
		0,1814	0,3107	1,5959	2,4514	
p		0,6705	0,5775	0,2073	0,1176	

* p – частота, m – ошибка среднего арифметического значения

Таким образом, данные показывают, что полиморфный маркер A218C гена *TRH1* ассоциирован с уровнем ситуативной тревожности. Носители аллеля *A, обеспечивающего высокую экспрессию гена, характеризуются достоверно более высокими показателями по шкале СТ по отношению к носителям низкоактивного аллеля *C.

При попарном сравнении частот генотипов и аллелей по полиморфному маркеру G-703T гена *TRH2* между группами со средними и высокими показателями тревожности достоверное статистически значимое различие не было установлено. Установлено достоверное различие в распределении генотипов *G/*G и *G/*T по шкале ситуативной тревожности в группах с низкими и средними показателями (табл. 3). Частота генотипа *G/*G была выше в группе с низким уровнем тревожности (61,54%) и уровень значимости не превышал критическую отметку ($p=0,0195<0,05$). Частота генотипа *G/*T была выше в группе со средними показателями по тесту (72,88%), чем в группе с низкими (23,08%) и уровень значимости был равен $p=0,0031<0,05$.

Таблица 3
Распределение частот генотипов и аллелей маркера G-703T гена TRH2 в группах с низкими и средними показателями тревожности

Шкала		Генотипы (частота, %±m)			Аллели (частота, %)	
СТ	Состояние	*G/*G	*G/*T	*T/*T	*G	*T
	низкий	61,54±13,49	23,08±11,68	15,38±10,00	73,08	26,92
	средний	23,73±5,53	72,88±5,78	3,39±2,35	60,17	39,83
		5,5061*	9,3968*	1,0827	3,0898	
p		0,0195*	0,0031*	0,2991	0,0788	
ЛТ	Состояние	*G/*G	*G/*T	*T/*T	*G	*T
	низкий	50,00±20,41	33,33±19,34	16,67±15,21	66,67	33,33

	средний	33,93±6,32	60,71±6,52	5,36±3,00	64,29	35,71
		0,1114	0,7340	0,0394	0,0005	
	p	0,7393	0,3924	0,8442	1,0005	

* p – частота, m – ошибка среднего арифметического значения

Таким образом, можно предположить, что наличие аллеля *G характеризует снижение показателей ситуативной тревожности, что объясняется меньшей скоростью синтеза серотонина.

Для полиморфного варианта гена *5-HTR2A* (*A-1438G*) статистически значимых различий не было установлено.

При исследовании межгенных взаимодействий полиморфных локусов генов *TRH1*, *TRH2* и *5-HTR2A* с помощью программы GMDR была определена двухфакторная модель взаимодействия ДНК-локусов: *TRH1* (*A218C*) и *TRH2* (*G-703T*). На рисунке 1 темно-серым цветом выделены ячейки с сочетаниями генотипов, определяющими высокие показатели ситуативной тревожности, светло-серого – низкие показатели. Тестируемая сбалансированная точность (Bal. Acc.) данной модели составила 0,7413; чувствительность (Se) – 0,8529; специфичность (Sp) – 0,6296; повторяемость результата (CV Consistency) – 10/10, p=0,0107.

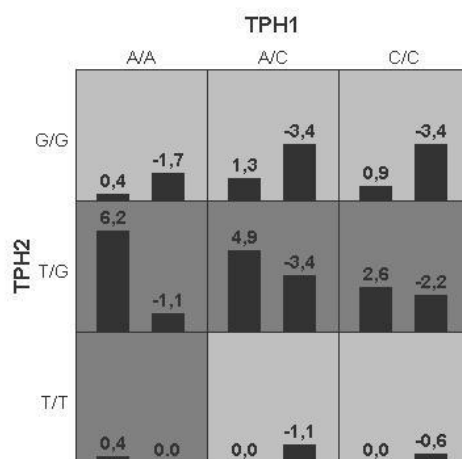


Рис. 1: Сочетания генотипов полиморфных локусов генов *TRH1* (*A218C*) и *TRH2* (*G-703T*) в выборке лиц с различными показателями ситуативной тревожности

К сочетаниям, определяющим высокие показатели ситуативной тревожности, отнесены 4 комбинации генотипов, из которых наиболее значимыми оказались: *TRH1***A*/**A* + *TRH2***T*/**G* и *TRH1***A*/**C* + *TRH2***T*/**G*. К сочетаниям, определяющим низкие показатели ситуативной тревожности, отнесены 5 комбинации генотипов, из которых наиболее значимым оказалось: *TRH1***A*/**C* + *TRH2***G*/**G*.

Полученные соотношения показывают, что при наличии высокоактивного аллеля *A гена *TRH1* и аллеля *T гена *TRH2*, отвечающих за повышение количества серотонина, наблюдаются повышение показателей ситуативной тревожности, в то время как присутствие аллелей *C гена *TRH1*

и *G гена *TRH2*, ответственных за снижение концентрации серотонина, наблюдаются низкие показатели.

Данные исследования полностью согласуются с существующей в настоящее время гипотезой о серотонинергической регуляции тревожности, согласно которой активация серотониновой системы сопровождается усилением тревожности [7]. Таким образом, показано, что аллельные варианты генов серотонинергической системы оказывают достоверное влияние на формирование индивидуальных различий по показателям ситуативной тревожности.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Науменко В.С. Серотониновые рецепторы и функциональные межрецепторные взаимодействия в пластичности серотониновой системы мозга, терморегуляции и регуляции поведения [Текст]: автореф. дис. на соиск. учен. степ. докт. биол. наук (03.03.01) / Науменко Владимир Сергеевич // Институт цитологии и генетики СО РАН. – Новосибирск, 2012. – 31 с.
2. Куликова М. А. Полиморфизмы генов дофаминергической системы – маркеры проявления тревожности у спортсменов [Текст]: автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук (14.00.51) / Куликова Мария Андреевна; Институт Высшей Нервной Деятельности РАН. – Москва, 2009. – 25 с.
3. Куликов А. В. Триптофангидроксилаза – ключевой фермент биосинтеза серотонина: генетический контроль и ассоциация с наследственной изменчивостью защитного поведения [Текст]: автореф. дис. на соиск. учен. степ. докт. биол. наук (03.00.15) / Куликов Александр Викторович; Институт цитологии и генетики СО РАН. – Новосибирск, 2005. – 32 с.
4. Суворов Н.Н. Производные индола в нейрофизиологии и психофармакологии [Текст] / Н.Н. Суворов // ЖВХО им. Д. И. Менделеева, 1976. – Т. XXI.
5. Барканова О.В. Методики диагностики эмоциональной сферы: психологический практикум [Текст] / О.В. Барканова // Красноярск: Литера-принт., 2009. – Вып.2. – с. 215-222.
6. Mathew C. The isolation of high molecular weight eucariotic DNA // *Methods in Molecular Biology*, 1985. – V.2.
7. Graeff F. G. On serotonin and experimental anxiety / F. G. Graeff // *Psychopharmacology*, 2002. – P. 467-476.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА РЕЦЕПТОРА СЕРОТОНИНА *HTR1A* У ЛИЦ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ВЕРБАЛЬНОГО ИНТЕЛЛЕКТА

Исрафилова А.Б., Гумерова О.В., Горбунова В.Ю.

ФГБОУ ВО «БГПУ им. М. Акмуллы», г. Уфа

Краткая аннотация: Проведен анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфизма rs6295 гена рецептора серотонина (*HTR1A*) в выборке студентов с разным уровнем вербального интеллекта. Показано преобладание аллеля *HTR1A*G* в группе студентов с низким уровнем вербального интеллекта.

Ключевые слова: вербальный интеллект; ген *HTR1A*.

Введение: Ген *5-HTR1A* был первым рецептором *5-HT*, который полностью секвенирован. Этот рецептор локализован на хромосоме 5 (5q11.2-q13). Находится в первую очередь в лимбической системе мозга, в частности в гипоталамусе, в латеральной перегородке, в области коры головного мозга, среднего мозга и в ядрах шва мозга. Центральные рецепторы *5-HT1A* имеют как пресинаптическую, так и постсинаптическую локализацию [1].

В гене *5-HT1A* выявлено 9 полиморфизмов. Из них наиболее изученный - это полиморфизм rs6295, который также называется C(-1019)G. Однуклеотидная замена цитозина на гуанин в промоторной области приводит к повышению уровня его транскрипции. Результатом является увеличенная плотность распределения серотонина в синаптических мембранах и, как следствие, снижение скорости и точности передачи нервного импульса [2].

В данной работе проведен анализ распределения частот генотипов и аллелей данного полиморфного локуса с показателями вербального интеллекта, который рассматривается как интегральное образование, функционирование которого осуществляется в словесно-логической форме с опорой преимущественно на знания.

Материалы и методы исследования. ДНК 125 студентов, были предоставлены лабораторией Центра молекулярно-генетических исследований Башкирского Государственного Педагогического университета им. М. Акмуллы. Образцы были получены с добровольного согласия у испытуемых. Выборка была разделена на 3 группы: с высоким (больше 130 баллов), со средним (от 110 до 130 баллов) и низким (ниже 110 балла) уровнем вербального интеллекта, на основе теста Х. Айзенка [3].

Образцы ДНК получены из 10 мл венозной крови человека. ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Анализ полиморфных локусов проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК. ПЦР производилась на амплификаторе

«Терцик» с использованием ДНК-полимеразы *Thermus aquaticus* производства фирмы «Силекс». Для амплификации участка ДНК, содержащего полиморфизм *C(-1019)G* в гене *5-HT1A*, использовались следующие праймеры:

5HTT F – GGC TGG ACT GTT AGA TGA TAA CG;

5HTT R – GGA AGA AGA CCG AGT GTG TCAT.

ПЦР проводили по следующей программе:

1) 95С, 5 минута -1 цикл;

2) 95С -45 с, 63С -1 мин, 72С -1мин. - 35 циклов;

3) Хранение: +10С.

ПДРФ анализ проводили с помощью рестриктазы *VseGI* (при 65С, 16 ч). Длина рестрикционных фрагментов составило 167 п.н. и 147+17 п.н. для аллелей *С и *G соответственно.

Детекцию продуктов проводили с помощью вертикального электрофореза в 7% полиакриламидном геле (исходное соотношение акриламида и метиленбисакриламида 29/1) при напряжении 300В.

Наблюдаемые частоты генотипов и аллелей исследованного локуса проверяли на отклонение от равновесия Харди-Вайнберга. Сравнение распределения частот аллелей и генотипов в обследованных группах проводили методом 2*2 (с поправкой Йейтса). Статистически достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Проведен анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного локуса полиморфизма rs6295 гена рецептора серотонина (*HTR1A*) среди студентов с разным уровнем вербального интеллекта. В исследованной выборке найдено три генотипа (*С/*С, *С/*G, *G/*G) и два аллеля (*С, *G).

В группе с высоким уровнем интеллектуального развития (выше 130 баллов) установлено следующее распределение частот аллелей и генотипов: *С - 66,67 %, *G - 33,33 %, *С/*С - 40,74 %, *С/*G - 51,85 %, *G/*G - 7,41 %.

В группе с низкими показателями вербального интеллекта (ниже 110 баллов) распределение частот составило: *С - 34,88 %, *G – 65,12 %, *С/*С - 11,63 %, *С/*G - 46,51 %, *G/*G - 41,86 %.

Проведен попарный анализ распределения частот генотипов и аллелей в зависимости от уровня вербального интеллекта. При сравнении групп с низким и высоким уровнем вербального интеллекта установлено достоверное различие в распределении частот генотипов *CC ($p=0,0121$), *GG ($p=0,0055$). Показано достоверно повышение частоты гомозиготы *G/*G в группе с низким уровнем интеллекта (41,86 %) по сравнению с группой с высокими значениями признака (7,41 %). Также установлено достоверное различие в распределении частот аллелей ($p=0,0012$). Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного варианта rs6295 гена *HT1A* с низким и высоким уровнем интеллекта

ДНК-локус	Генотипы/ Аллели	Низкий уровень интеллекта (ниже 110)		Высокий уровень интеллекта (больше 130)		p(χ^2)
		n	p, %	N	p, %	
<i>HTR1A</i> <i>rs6295</i>	CC	5	11,63	11	40,74	0,0121 (6,4072)
	CG	20	46,51	14	51,85	0,8504 (0,0364)
	GG	18	41,86	2	7,41	0,0055 (8,0330)
	C	30	34,88	36	66,67	0,0012 (12,2024)
	G	56	65,12	18	33,33	

Таким образом, результаты проведенного сравнительного анализа указывают на наличие ассоциации уровня вербального интеллекта с полиморфизмом гена *HTR1A*. Установлено, что в группе индивидов с низким уровнем вербального интеллекта достоверно выше частота аллеля *G и снижена частота генотипа *CC.

ЛИТЕРАТУРА

1. Генетическая база данных GeneCards [Электронный ресурс] / Режим доступа: <http://www.genecards.org/>, свободный. — Загл. с экрана. — Яз. англ.
2. Нейрохимия (учеб. Пособие для вузов) / А.А. Болдырев [и др.]; под ред. Ю.А. Вламирова. – М.:Дрофа, 2010. – 398 [2] с.
3. Вербальный тест интеллекта Г.Айзенка (Тест на IQ) / Альманах психологических тестов – М., 1995. С.35-46

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ РЕПАРАЦИОННОЙ СИСТЕМЫ (*XRCC1*, *OGG1*) ПРИ ОНКОПАТОЛОГИИ

Казакова Т. Ю., Воробьева Е. В.

ФГБОУ ВО «БГПУ им. М. Акмуллы», г Уфа

Ключевые слова: эксцизионная репарация оснований, полиморфизм, ген-онкосупрессор, *XRCC1* (*X-ray cross-complementing group 1*), *OGG1* (8-оксогуанин-ДНК-гликозилаза).

Краткая аннотация. Проведен генетический анализ распределения частот генотипов и аллелей по полиморфным локусам генов репарационной системы *XRCC1 rs1799782 (C/T)* и *OGG1 rs1052133 (C/G)*.

Введение. Под воздействием различных факторов химической и/или физической природы могут возникать всевозможные изменения на первичном уровне системы хранения и передачи наследственной информации – непосредственно в последовательности гена. Нарушение целостности в структуре генома могут привести к перерождению клетки, но этим процессам препятствуют гены системы клеточной репарации.

Наличие нескольких репарационных систем (фотореактивация, апуринизация, эксцизионная репарация, негомологичное воссоединение разорванных концов ДНК, гомологичная рекомбинация, SOS-репарация, пострепликативная репарация ДНК и др.) с различным спектром задач позволяет клетке оставаться генетически стабильной в процессе клеточного цикла и не вступать в конфликт со своим окружением, вовремя элиминируясь при фатальных повреждениях ДНК [2].

Нарушения в генах репарационной системы приводят либо к снижению эффективности репарации, либо полностью подавляют репарационную активность. За счет накоплений повреждений в ДНК, связанных с ослаблением системы репарации, увеличивается частота заболеваний раком [1].

Эксцизионная репарация оснований (ЭРО) необходима для точечного удаления поврежденных оснований ДНК, индуцированных окислительными и алкилирующими агентами.

Полиморфизм генов эксцизионной репарации широко изучается в связи с риском канцерогенеза и других хронических заболеваний. Большинство повреждений ДНК удаляется белками эксцизионной репарации. Мутации в генах репарации ДНК приводят к тяжелой наследственной патологии, сопровождающейся хромосомной нестабильностью и злокачественными новообразованиями [3].

Одними из важных генов, участвующих в эксцизионной репарации являются гены *XRCC1* и *OGG1*, нарушение функции которых приводит к злокачественному перерождению клетки. Ввиду выполняемых ими функций

в процессе поддержания генетической стабильности изучение генов *XRCC1* и *OOG1* является актуальным.

Ген *XRCC1* локализован на 19 хромосоме в локусе 19q13.2, включает 17 экзонов и кодирует белок состоящий из 633 аминокислот. Белок, кодируемый геном *XRCC1*, считается интегральным регулятором эксцизионной репарации оснований. Некоторые полиморфные варианты данного гена: Arg194Trp, Arg280His, Arg399Gln, – характеризуются изменением конформации белка *XRCC1*, снижающей сродство к многокомпонентному белковому комплексу, участвующему в процессе репарации, уменьшая тем самым активность координатора эксцизионной репарации и скорость сборки всего комплекса [5].

Основным ферментом, обеспечивающим протекание процессов эксцизионной репарации ДНК, является 8-оксогуанин-ДНК-гликозилаза (*OGG1*), ген которой содержит 8 экзонов и картирован на хромосоме 3 в локусе 3p26.2. Осуществляя свою функцию посредством вырезания из молекулы ДНК мутантного основания 8-охоG, фермент *OGG1* поддерживает нормальную структуру ДНК, снижая риск мутагенеза. Функциональная активность фермента 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы напрямую зависит от структурной основы кодирующего гена. При сохранении исходной конфигурации гена *OGG1* в организме вырабатывается максимально активный фермент эксцизионной репарации. Изменения в структуре гена с формированием полиморфного варианта могут сопровождаться экспрессией неполноценного фермента, что приводит к снижению защитной системы репарации ДНК и уязвимости организма перед возникающими мутагенами. Наиболее детально изучен полиморфизм Ser326Cys (rs1052133), который располагается в 7 экзоне данного гена в 326 кодоне и 1245 позиции и приводит к замене серина на цистеин. По мнению авторов, именно эта замена играет исключительную роль в реализации патологического эффекта [4].

Целью настоящего исследования является анализ аллельных состояний генов *XRCC1* и *OGG1* в норме и при онкопатологии.

Материалы и методы. В работе были использованы образцы ДНК 286 индивидов, из которых 127 здоровых и 159 больных с различной локализацией опухоли.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием таблицы сопряженности 2x2 (с поправкой Йэйтса). Анализ частот аллелей и генотипов проводили с применением критерия χ^2 .

Результаты и обсуждение. При попарном сравнении частот аллелей и генотипов по полиморфному локусу *rs1799782* в гене *XRCC1* в группах здоровых и онкобольных выявлено статистически значимое достоверное повышение частоты генотипов *CC* и *CT*, а также аллеля **C* в группе здоровых по сравнению с группой онкобольных индивидов ($p=0,0019$, $\chi^2=10,7$; $p=0,0005$, $\chi^2=17,9$; $p=0,0009$, $\chi^2=13,5$ соответственно). В группе онкобольных преобладал генотип *TT*, а также аллель **T* ($p=0,0005$, $\chi^2=32,3$; $p=0,0009$, $\chi^2=13,5$ соответственно) (табл. 1).

Таблица 1

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта гена *XRCC1 rs1799782(Arg194Trp)* у здоровых индивидов и в группе с онкопатологией

Генотип/аллель	Здоровые		Онкобольные		p (χ^2)
	N	$p_i \pm s_p$	n	$p_i \pm s_p$	
<i>CC</i>	12	0,09±0,02	1	0,01±0,01	0,0019 (10,7)
<i>CT</i>	75	0,59±0,04	53	0,3±0,03	0,0005 (17,9)
<i>TT</i>	40	0,31±0,04	105	0,64±0,02	0,0005 (32,3)
* <i>C</i>	87	0,43±0,02	54	0,17±0,02	0,0009 (13,5)
* <i>T</i>	115	0,57±0,03	158	0,78±0,02	0,0009 (13,5)

В результате попарного сравнения частот аллелей и генотипов по полиморфному локусу (*rs1052133*) гена *OGG1* в группах здоровых и онкобольных выявлено статистически значимое достоверное повышение частоты гомозиготного генотипа *CC*, а также аллеля **C* ($p=0,0005$, $\chi^2=18,9$; $p=0,0048$, $\chi^2=8,35$ соответственно). В группе онкобольных преобладали генотипы *CG* и *GG*, а также аллель **G* по сравнению с группой здоровых индивидов ($p=0,0129$, $\chi^2=6,28$; $p=0,0063$, $\chi^2=7,74$; $p=0,0048$, $\chi^2=8,35$ соответственно) (табл. 2).

Таблица 2

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта гена *OGG1 rs1052133(Ser326Cys)* у здоровых индивидов и в группе с онкопатологией

Генотип/аллель	Здоровые		Онкобольные		p (χ^2)
	N	$p_i \pm s_p$	n	$p_i \pm s_p$	
<i>CC</i>	76	0,59±0,04	53	0,33±0,04	0,0005 (18,9)
<i>CG</i>	45	0,35±0,04	81	0,51±0,04	0,0129 (6,28)
<i>GG</i>	6	0,05±0,02	25	0,16±0,03	0,0063 (7,74)
* <i>C</i>	121	0,70±0,03	134	0,56±0,03	0,0048 (8,35)
* <i>G</i>	51	0,29±0,03	106	0,44±0,03	0,0048 (8,35)

Таким образом, по результатам данного исследования, можно сделать вывод, что анализ полиморфизмов ключевых генов систем репарации ДНК может иметь клиническую и прогностическую значимость при формировании групп высокого риска возникновения раковых заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Минина В.И., Дружинин В.Г., Лунина А.А., Ларионов А.В., Волков А.Н., Головина Т.А., Глушков А.Н. Исследование взаимосвязи между полиморфизмом генов репарации ДНК и частотой хромосомных

- аббераций в лимфоцитах крови человека// Экологическая генетика. Том IX. № 2. 2011, ISSN 1811–0932.
2. Мутовин Г.Р. Клиническая генетика. Геномика и протеомика наследственной патологии: учеб. пособие. – 3-е изд. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 832 с.
 3. Никитченко Н.В., Романюк О.П., Савина Н.В., Кужир Т.Д., Гончарова Р.И. Полиморфизм генов эксцизионной репарации XPD, XRCC1 и HOGG1 у населения республики Беларусь и его влияние на канцерогенез//Экологическая генетика. 2013; XI (4) 45-63с.
 4. Сорокина Ю. А. Однонуклеотидный полиморфизм гена репарации ДНК — 8-оксогуанидин-днк-гликозилазы: от онкологии к сахарному диабету 2 типа//Медицина и образование Сибири. № 1 - 2015 г.
 5. Thompson L.H., Brookman K.W., Jones N.J., Allen S.A., Carrano A.V. Molecular cloning of the human XRCC1 gene, which corrects defective DNA strand break repair and sister chromatid exchange. Mol Cell Biol. 1990 Dec; 10 (12):6160-71.

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ РЕКРЕАЦИОННОГО ФАКТОРА НА ВИДОВОЙ СОСТАВ СООБЩЕСТВ ШИРОКОЛИСТВЕННОГО ЛЕСА

Каюмова Э.И., Наумова Л.Г.

ФГБОУ ВО БГПУ им. М. Акмуллы, г. Уфа, Россия

Актуальность исследования. В настоящее время антропогенные изменения растительности являются самым важным фактором динамики экосистем (Рысин, 1983, 2003 и др.). Среди этих изменений в лесной растительности большая роль принадлежит рекреационным сукцессиям, которые происходят под влиянием вытаптывания напочвенного покрова отдыхающими (Савельева, 2008).

Цель исследования: изучить влияние рекреационного фактора на флористический состав напочвенного покрова широколиственного леса.

Задачи исследования:

- 1) проанализировать влияние рекреационного фактора на видовое богатство сообщества;
- 2) выявить влияние рекреационного фактора на систематический состав сообщества;
- 3) выявить влияние рекреационного фактора на фитосоциологический состав сообщества.

Объект и методы исследования

Исследование выполнено в Бакалинском районе Республики Башкортостан близ деревни Новоальметьево в сообществах широколиственного леса в июле 2015 г.

Объектом исследования послужили два сообщества широколиственного леса, испытывающих разную нагрузку рекреационного фактора. Первое сообщество может рассматриваться как контроль. Оно расположено на удалении от села (на расстояние более 500 м) и испытывает слабое рекреационное влияние. Второе сообщество примыкает к населенному пункту и часто посещается населением.

Были использованы следующие **методы исследования:**

- метод геоботанического описания (по стандартной методике, Наумова, Хусаинов, 2010);
- метод анализа спектров систематического и фитосоциологического состава сообществ (Миркин, Наумова, 2014).

Результаты исследования и их обсуждение

Приведем геоботанические описания двух изученных сообществ.

1. Геоботаническое описание сообщества, испытывающего слабое влияние рекреационного фактора

Автор: Каюмова Э. И.

Дата: 16 июля 2015 г.

Локализация: Бакалинский район, с. Бакалы, близ деревни Новоальметьево, широколиственный лес.

Число видов: 27

Характеристика древостоя	
Высота: 25 м	
Полнота: 70%	
Формула древостоя – 6Д4Л (<i>Quercus robur</i> , <i>Tilia cordata</i>)	
Характеристика подростa	
единично – <i>Quercus robur</i> , <i>Padus avium</i> , <i>Acer platanoides</i>	
Характеристика подлеска	
единично – <i>Sorbus aucuparia</i>	
Напочвенный покров	
Проективное покрытие: 60%	
Вид	Обилие
<i>Galium odoratum</i>	2
<i>Stellaria holostea</i>	2
<i>Aconitum lycoctonum</i>	1
<i>Aegopodium podagraria</i>	1
<i>Centaurea jacea</i>	1
<i>Dryopteris filix-mas</i>	1
<i>Filipendula ulmaria</i>	1
<i>Fragaria viridis</i>	1
<i>Lathyrus vernus</i>	1
<i>Linaria vulgaris</i>	1
<i>Medicago lupulina</i>	1
<i>Melandrium album</i>	1
<i>Paris quadrifolia</i>	1
<i>Polygonatum odoratum</i>	1
<i>Potentilla erecta</i>	1
<i>Pulmonaria mollis</i>	1
<i>Rubus caesius</i>	1
<i>Rubus saxatilis</i>	1
<i>Scrophularia nodosa</i>	1
<i>Stachys officinalis</i>	1
<i>Stachys sylvatica</i>	1
<i>Viola ambigua</i>	1

2. Геоботаническое описание сообщества, испытывающего существенное влияние рекреационного фактора

Автор: Каюмова Э. И.

Дата: 16 июля 2015 г.

Локализация: с. Бакалы, деревня Новоальметьево, широколиственный лес

Число видов: 29

Характеристика древостоя	
высота 25 м; полнота 60%; формула – 6Д4Л (<i>Quercus robur</i> , <i>Tilia cordata</i>)	
Характеристика подростa	
единично – <i>Quercus robur</i> , <i>Acer platanoides</i> , <i>Padus avium</i>	
Характеристика подлеска	
единично – <i>Sorbus aucuparia</i> , <i>Corylus avellana</i>	
Напочвенный покров	
Проективное покрытие 60%	
Виды	Обилие
<i>Achillea millefolium</i>	2
<i>Fragaria viridis</i>	2
<i>Aconitum lycoctonum</i>	1
<i>Amoria repens</i>	1
<i>Aegopodium podagraria</i>	1
<i>Agrimonia eupatoria</i>	1
<i>Artemisia absintium</i>	1
<i>Centaurea jacea</i>	1
<i>Cichorium intybus</i>	1
<i>Cirsium setosum</i>	1
<i>Dactylis glomerata</i>	1
<i>Festuca pratensis</i>	1
<i>Filipendula ulmaria</i>	1
<i>Galium odoratum</i>	1
<i>Geranium sylvaticum</i>	1
<i>Inula Britannica</i>	1
<i>Lathyrus vernus</i>	1
<i>Linaria vulgaris</i>	1
<i>Plantago major</i>	1
<i>Polygonatum odoratum</i>	1
<i>Sanguisorba officinalis</i>	1
<i>Stachys officinalis</i>	1
<i>Stachys sylvatica</i>	1
<i>Tripleurospermum perforatum</i>	1
<i>Veronica chamaedrys</i>	1

В табл. 1 приведено сравнение спектров систематического состава напочвенного покрова этих сообществ. Состав древесных видов в ходе сукцессии не менялся и потому не обсуждается.

Таблица 1

Сравнение систематических спектров двух изученных сообществ

Семейство	Сообщество со слабым влиянием рекреации		Сообщество с существенным влиянием рекреации	
	Число видов	%	Число видов	%
Rosaceae	5	21,73	4	16
Fabaceae	3	13,04	2	8
Scrophulariaceae	2	8,69	2	8
Lamiaceae	2	8,69	2	8
Liliaceae	1	8,69	1	4
Asteraceae	1	4,34	7	28
Rubiaceae	1	4,34	1	4
Ranunculaceae	1	4,34	1	4
Caryophyllaceae	2	8,69	-	-
Dryopteridaceae	1	4,34	-	-
Boraginaceae	1	4,34	-	-
Violaceae	1	4,34	-	-
Poaceae	-	-	2	8
Apiaceae	-	-	1	4
Geraniaceae	-	-	1	4
Plantaginaceae	-	-	1	4
Общее число видов	22	100	25	100
Число семейств	12	-	12	-

Из табл. 1 очевидно, что под влиянием рекреации в систематическом спектре сообществ произошли изменения, хотя общее число семейств (12) сохранилось. Уменьшилось число видов семейств Rosaceae и Fabaceae. Из состава сообщества выпали виды семейств Caryophyllaceae, Dryopteridaceae, Boraginaceae, Violaceae. В то же время появились виды семейств Poaceae, Apiaceae, Geraniaceae и Plantaginaceae.

В табл. 2 показано сравнение фитосоциологических спектров изученных сообществ.

Таблица 2

Сравнение систематических спектров двух изученных сообществ

Синтаксон	Сообщество со слабым влиянием рекреации		Сообщество с существенным влиянием рекреации	
	Число видов	%	Число видов	%
<i>Quercus-Fagetea</i>	15	65,2	8	32
<i>Molinio-Arrhenatheretea</i>	5	21,7	8	32
<i>Artemisietea vulgaris</i>	2	8,7	3	12

<i>Trifolio-Geranietea</i>	1	4,4	1	4
<i>Polygono arenastri-Poetea annuae</i>	-	-	3	12
<i>Stellarietea mediae</i>	-	-	2	8

Из табл. 2 очевидно, что под влиянием рекреации в видовом составе напочвенного покрова произошли существенные изменения:

- 1) участие видов класса *Quercus-Fagetea* уменьшилось в два раза;
- 2) возросло участие видов вторичных лугов класса *Molinio-Arrhenatheretea* и класса рудеральной растительности *Artemisietea vulgaris*;
- 3) в состав напочвенного покрова внедрились синантропные виды из класса луговых пастбищ *Polygono arenastri-Poetea annuae* и класса однолетних рудеральных видов *Stellarietea mediae*;
- 4) уровень синантропизации (долевого участия видов классов синантропной растительности) повысился с 35 до 68%.

Таким образом, выполненное исследование показало, что рекреационное воздействие на лесное сообщество вызвало изменения в составе напочвенного покрова. Особенно существенны изменения фитосоциологического состава: в напочвенном покрове снизилась доля типичных видов широколиственных лесов класса *Quercus-Fagetea* и повысилось участие синантропных луговых и рудеральных видов.

Снизить влияние рекреационного фактора на растительные сообщества лесов можно при рекреационном обустройстве территории (Рысин, 1983).

ЛИТЕРАТУРА

Миркин Б.М., Наумова Л.Г. Краткий энциклопедический словарь науки о растительности. Уфа: Гилем, Башк. энцикл., 2014. 288 с.

Наумова Л.Г., Хусаинов А.Ф. Научно-исследовательская деятельность студентов: изучение флоры населенных пунктов: учебно-методическое пособие для бакалавров и магистров. Уфа: Изд-во БГПУ, 2010. 116 с.

Рысин Л.П. Рекреационные леса и проблемы оптимизации рекреационного лесопользования // Рекреационное лесопользование в СССР. М.: Наука, 1983. С. 5-20.

Рысин С.Л. Методология и методика изучения рекреационного потенциала лесопарковых ландшафтов // В кн.: Мониторинг рекреационных лесов. ОНТИ ПНЦ РАН, 2003. С. 115-135.

Савельева Л.И. Формы динамики лесных сообществ на урбанизированных территориях // В кн.: Лесные экосистемы и урбанизация. М.: Т-во науч. изд. КМК, 2008. С. 7-23.

ИССЛЕДОВАНИЕ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРОВ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Рустямова Р.С., Васильева Э.М.

ФГБОУ ВО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Ключевые слова: рак молочной железы (РМЖ); цитокиновая система; интерлейкин-4R; IL-6R; Th1, Th2 лимфоциты.

Введение. Онкологические заболевания являются наиболее привлекательной и в то же время сложной областью изучения и применения цитокинов в качестве иммунотерапевтических средств. Многообразие биологических эффектов цитокинов, их ключевая роль как медиаторов взаимодействий в поддержании гомеостаза предполагают участие их во многих патологических процессах, в том числе и при злокачественных новообразованиях. Известно, что патогенез многих патологических процессов обусловлен нарушением цитокиновой системы. С учетом различного рода сведений о значительной роли цитокинов в развитии патологических процессов организма представляется целесообразным исследование взаимодействий генов цитокиновой системы при онкологических процессах. Эти исследования особенно важны для понимания механизма развития злокачественных новообразований [1].

Цитокины принимают непосредственное участие в физиологических и патофизиологических реакциях организма, обеспечивая согласованное действие иммунной, эндокринной и нервной системы. Изменение уровня продукции цитокинов и особенности их синтеза у определенного индивида может лежать в основе ряда заболеваний. При опухолевом росте нередко изменяется характер взаимодействий в системе «иммунокомпетентные клетки–цитокины», что может лежать в основе нарушения механизмов реализации противоопухолевой защиты организма [2].

Продуцируемые Th2 лимфоцитами IL-4, IL-6 стимулируют гиперпродукцию антител и направляют иммунный ответ по гуморальному типу, подавляя активность Th1-лимфоцитов, что в случае развития злокачественных опухолей, с одной стороны, приводит к угнетению цитотоксических клеток и T-эффекторов гиперчувствительности замедленного типа, с другой – способствует формированию феномена иммунологического усиления роста опухоли за счет «экранирования» антигенных детерминант опухолевых клеток антителами [3].

Наиболее сильный эффект IL-4R оказывает на регуляцию образования других цитокинов при иммунном ответе. IL-4 ограничивает синтез макрофагами провоспалительных IL-1 β , IL-6, IL-12, TNF α , образование

высокоактивных метаболитов кислорода, азота, усиливает дифференцировку в цитотоксические Т-клетки, активирует макрофаги, усиливая их цитотоксический потенциал. Ген IL-4 предотвращает рост опухоли и стимулирует апоптоз опухолевых клеток в клеточных линиях только в присутствии IL-4R [3-4]. Ингибирующий эффект IL-4R обусловлен, как предполагается, снижением экспрессии онкогенов, блокадой клеточного цикла. Выявлено, что IL-4R аналогично IL-6R играет важную роль в регуляции синтеза эстрогенов [5].

Рецептор гена IL-6 отвечает за сигнальную трансдукцию и принимает прямое участие в воспалительных процессах. Высокие уровни наблюдаются у ВИЧ-инфицированных лиц и у пациентов с множественными миеломами, В-лимфоцитарными лейкозами и раке молочной железы. При РМЖ IL-6 стимулирует экспрессию эстрогенов и, соответственно, усиливает пролиферацию опухолевых клеток. Это подтверждается тем, что в подавляющем большинстве случаев опухолевая прогрессия при РМЖ сопровождается увеличением сывороточного уровня IL-6 и продуктов рецептора IL-6R [6-7].

Регуляция экспрессии цитокинов происходит прежде всего на транскрипционном уровне, в промоторном регионе гена. Выявлен функциональный полиморфизм промоторного региона гена IL-4R в позиции -460 C→T и показана ассоциация высокой продукции белка с *T-аллельным вариантом гена. Для IL-6R описана однонуклеотидная замена в позиции -196 G→C, причем *C-аллельный вариант связан со сниженной промоторной активностью гена.

Цель настоящего исследования заключается в генетическом анализе генов цитокиновой системы IL-4 и IL-6 в норме и при онкопатологии.

Материалы и методы. В работе использованы образцы ДНК 389 человек, проживающих в Республике Башкортостан. Из них 192 здоровых индивидов и 197 больных раком молочной железы, находившихся на стационарном лечении в ГБУЗ Республиканском клиническом онкологическом диспансере МЗ Республики Башкортостан.

Экстракция ДНК из периферической крови проводилась стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции.

Генотипирование проводили методом ПЦР-ПДРФ-анализа с последующей детекцией продуктов в 7 %- ПААГ. Для статистической обработки данных применялся критерий χ^2 , таблица сопряженности 2x2, достоверность различий между группами проводили методом точной оценки Фишера.

Результаты и обсуждение. Проведен анализ распределения генотипов промоторного региона генов IL-4R и IL-6R в группе здоровых женщин и больных РМЖ. Распределение частот генотипов в обследуемых группах соответствует распределению, ожидаемому при соблюдении равновесия Харди–Вайнберга и частотам в европеоидных популяциях.

Таблица 1. Распределение частот генотипов IL-4R и IL-6R у пациентов с РМЖ и в контрольной группе (достоверность различий определяли точным методом Фишера), в %

	РМЖ	Здоровые	p (χ^2)
IL-4R			
СС	54,6	58,1	0,87*
СТ	37,9	36,8	1,05
ТТ	7,5	5,1	1,48
IL-6R			
GG	32,0	27,6	1,23*
GC	48,1	48,5	0,99
CC	19,9	23,9	0,79**

Примечание. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,005$.

Выявлено статистически значимое достоверное повышение частоты генотипов гена IL-4R: СС и СТ, а также аллеля *С в группе здоровых по сравнению с группой онкобольных индивидов ($p=0,04$, $\chi^2=0,86$). В группе онкобольных преобладал генотип ТТ, а также аллель *Т ($p=0,005$, $\chi^2=1,48$ соответственно).

Исследования по полиморфизму промоторного региона гена, ответственного за уровень продукции IL-4R у пациентов с противосполительными процессами показали увеличение частоты *Т IL-4 (-460) аллельного варианта с высокой промоторной активностью, и увеличенную частоту *ТТ-генотипа.

IL-6R: СС и GC, а также аллеля *С в группе здоровых по сравнению с группой онкобольных индивидов ($p=0,04$, $\chi^2=0,79$). В группе онкобольных преобладал генотип GG, а также аллель *G ($p=0,03$, $\chi^2=1,23$ соответственно).

Наиболее изученный полиморфный сайт промоторного региона гена IL-6R расположен в позиции (-196) с заменой G→C. Показано, что *С-аллельный вариант ассоциирован с более низким уровнем продукции. В ряде исследований показано, что наличие у женщин *С-аллельного варианта гена значительно снижает риск развития рака молочной железы. У женщин, имеющих в генотипе *С-аллельный вариант либо при присутствии по крайней мере одного *С-аллельного варианта в промоторном регионе гена IL-6R (-196) связывают с низким риском развития заболевания. У пациенток с гомозиготным генотипом *GG, страдающих РМЖ, быстрее поражаются

лимфоузлы, развивается процесс метастазирования, выше риск летального исхода по сравнению с пациентками с *СС гомозиготным генотипом.

Таким образом, полученные результаты позволяют говорить о ключевой роли генов цитокиновой системы в формировании риска развития онкопатологии РМЖ и позволяют предположить дальнейшее исследование с учетом клинических особенностей развития опухолевого процесса в данной группе. Учитывая выявленные в ряде исследований закономерности ответа на терапию, ассоциированные с генотипами IL-4R и IL-6R с разной промоторной активностью, полученные нами результаты свидетельствуют об актуальности дальнейших исследований с целью выявления информативных маркеров, ассоциированных с риском заболевания и чувствительностью к химиотерапии рака молочной железы при многофакторном расчете прогноза развития заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Родионов С.Ю., Черешнев В.А., Орлова Е.Г., Тараненко Л.А., Сибиряк С.В., Орлов О.А., Шур Н.Н., Крапивина О.А., Суховая Д.А. Содержание сывороточных цитокинов у онкологических больных при иммуно- и полихимиотерапии с применением альфа-фетопротеина человека // Цитокины и воспаление. – 2007. – Т. 6, № 3. – С. 36-39.
2. Тугуз А.Р., Анисимова Н.Ю., Вершинина М.В. Соотношение основных цитокинов в крови онкологических больных и здоровых доноров // Иммунология. – 2003. – Т. 3. – С. 184-186.
3. Ярилин А. А. Система цитокинов и принцип ее функционирования в норме и патологии / А. А. Ярилин // Иммунология. 1997.- № 5. - С. 7-13.
4. Balasubramanian S.P., Azmy I.A.F., Higham S.E., Wilson A.G., Cross S.S., Cox A., Brown N., Reed M.W. Interleukin gene polymorphisms and breast cancer: a case control study and systematic literature review // BMC Cancer. – 2006. – Vol. 188, N 6. – <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/6/188>.
5. DeMichele A.D., Martin A.-M., Weber B.L. IL-6 variants as modifiers of breast cancer outcome // Proc. Amer. Assoc. Cancer Res. – 2004. – Vol. 45. – P. 1316-1317
6. Nagai S., Toi M. Interleukin-4 and breast cancer // Breast Cancer. – 2000. – Vol. 7(3). – P. 181-186.
7. Heneghan M.A., Johnson P.J., Clare M., Ho S., Harrison P.M., Donaldson P.T. Frequency and nature of cytokine gene polymorphisms in hepatocellular carcinoma in Hong Kong Chinese // Int. J. Gastrointest Cancer. – 2003. – Vol. 34, N 1. – P. 19-26.

АНАЛИЗ ВКЛАДА МЕЖГЕННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОВ ПЕРЕНОСЧИКА И РЕЦЕПТОРОВ СЕРТОНИНА В ФОРМИРОВАНИЕ НЕВЕРБАЛЬНЫХ И ВЕРБАЛЬНЫХ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНЫХ СПОСОБНОСТЕЙ

Садыкова Л.Р., О.В. Гумерова,
БГПУ им. М. Акмуллы, г. Уфа

Ключевые слова: вербальный, интеллект, невербальный, рецептор, переносчик, серотонин

Краткая аннотация. Произведено исследование роли межгенных взаимодействий аллелей генов серотониновой системы (*SLC6A4 (5-HTTLPR)*, *5HTR2C (G68C)*, *5HTR1A (C(-1019)G)*) при различных показателях невербальных и вербальных интеллектуальных способностей у студентов Естественно-географического факультета БГПУ им. М. Акмуллы. Для высоких и низких показателей невербального и вербального *IQ* были выявлены трехфакторные модели сочетаний генотипов по исследуемым локусам.

Введение. В эпоху постиндустриального общества одной из наиболее социально значимых характеристик является умственный потенциал населения. Он, подобно демографическому, территориальному и технологическому потенциалам, является одним из оснований прогрессивного развития общества и государства [1].

Общий интеллект имеет две подструктуры – вербальный и невербальный интеллект [2]. Невербальный интеллект – подструктура, связанная с функционированием наглядно-действенного мышления с опорой на зрительные образы и пространственные представления; вербальный интеллект – подструктура, связанная со словесно-логическим мышлением с опорой на накопленные знания. Невербальные способности, в отличие от вербальных, не изменяются с течением времени и сильно обусловлены наследственными факторами ($h^2 = 0,71$) [3].

Нейромедиаторные системы головного мозга, в частности, серотонинергическая – область, представляющая особый интерес для изучения психогенетических особенностей человека.

На кафедре генетики БГПУ им. М. Акмуллы проведено изучение генетических основ невербального интеллекта. Уже показаны ассоциации уровня невербального интеллекта с такими генами, регулирующими деятельность серотонинергической нейромедиаторной системы, как моноаминоксидаза А *MAOA* и рецепторы серотонина *5HTR*.

Целью настоящего исследования явилось изучение роли межгенных взаимодействий аллелей генов серотониновой системы и поиск сочетаний генотипов при различных показателях невербальных и вербальных

интеллектуальных способностей для молекулярно-генетической диагностики интеллектуального потенциала индивидов.

Методы. Определение уровня невербального интеллекта проводилось по методике культурно-свободного теста интеллекта Р. Кеттелла [4]. Для оценки средние показатели невербального интеллекта составляли диапазон 110-130 баллов. Определение уровня вербального интеллекта проводилось при помощи вербального теста Г. Айзенка. Для оценки средние показатели вербального интеллекта составляли диапазон 100-130 баллов.

Материалом исследования послужили образцы ДНК 150 студентов в возрасте от 19 до 22 лет. ДНК выделена из периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции [5].

Анализ полиморфных маркеров генов *SLC6A4* (*5-HTTLPR*), *5HTR2C* (*G68C*), *5HTR1A* (*C(-1019)G*) проводился методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК [6] с последующим ПДРФ-анализом [7].

Анализ межгенных взаимодействий указанных локусов проводился с использованием программ MDR и Generalized Multifactor-Dimensionality Reduction (GMDR) [8].

Результаты. Средний показатель невербального *IQ* в исследуемой выборке составил 113 баллов, вербального *IQ* – 117 баллов.

Проведенный GMDR-анализ выявил 5 трехфакторных моделей сочетаний генотипов, коррелирующих с высокими показателями невербального *IQ*. Тестируемая точность данных моделей составила 0,7074; чувствительность – 0,7483; специфичность – 0,6665; повторяемость результата – 10/10, $p = 0,0397$. Из них наиболее значимыми явились:

$$\begin{aligned} & SLC6A4 *L/*L + 5HTR2C *G/*G + 5HTR1A *C/*C, \\ & SLC6A4 *L/*S + 5HTR2C *G/*G + 5HTR1A *C/*G, \end{aligned}$$

где отсутствуют гомозиготные по мутантным маркерам генотипы.

Для низких показателей невербального *IQ* выявлены 3 трехфакторные модели, из которых значимыми оказались:

$$\begin{aligned} & SLC6A4 *S/*S + 5HTR2C *G/*G + 5HTR1A *C/*G, \\ & SLC6A4 *L/*S + 5HTR2C *G/*G + 5HTR1A *G/*G. \end{aligned}$$

Выявлены 3 трехфакторные модели комбинаций генотипов, коррелирующие с высокими показателями вербального *IQ*. Тестируемая точность данных моделей составила 0,8243; чувствительность – 0,6485; специфичность – 1,0000; повторяемость результата – 10/10, $p = 0,0486$. Из них значимыми являются:

$$\begin{aligned} & SLC6A4 *L/*L + 5HTR2C *G/*G + 5HTR1A *G/*G, \\ & SLC6A4 *L/*S + 5HTR2C *G/*G + 5HTR1A *C/*G, \end{aligned}$$

где присутствуют мутантные аллели гена *5HTR1A*.

Для низких показателей вербального *IQ* выявлены следующие комбинации генотипов:

$$\begin{aligned} & SLC6A4 *S/*S + 5HTR2C *G/*G + 5HTR1A *C/*G, \\ & SLC6A4 *L/*S + 5HTR2C *G/*C + 5HTR1A *C/*C. \end{aligned}$$

В программе MDR также был произведен анализ ген-генных взаимодействий исследуемых локусов.

Модель ген-генных взаимодействий, определяющих высокий уровень невербального интеллекта, представлена на рис. 1.

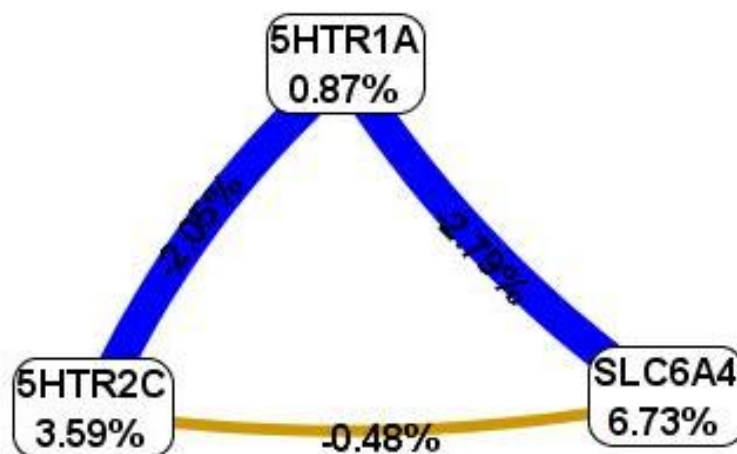


Рис. 1. Модель ген-генных взаимодействий, связанных с формированием высоких показателей невербального интеллекта.

Вклад локусов в формирование признака «невербальный интеллект»: *SLC6A4* (*5-HTTLPR*) – 6.73%, *5HTR2C* (*G68C*) – 3.59%, *5HTR1A* (*C(-1019)G*) – 0.87%.

Модель ген-генных взаимодействий, определяющих высокий уровень вербального интеллекта, представлена на рис. 2.

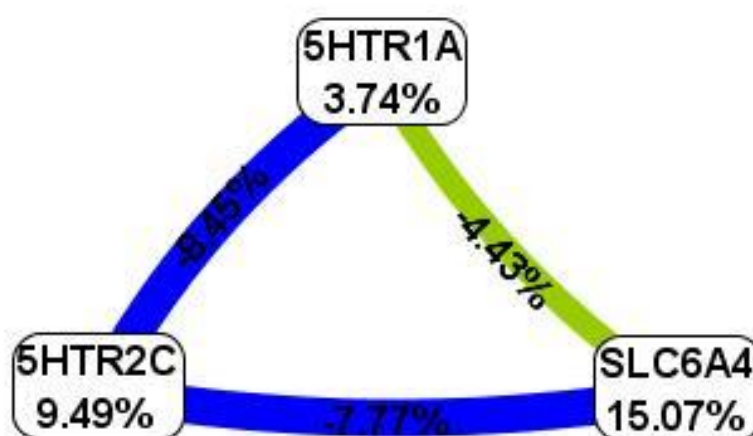


Рис. 2. Модель ген-генных взаимодействий, связанных с формированием высоких показателей вербального интеллекта.

Вклад локусов в формирование признака «невербальный интеллект»: *SLC6A4* (*5-HTTLPR*) – 15.07%, *5HTR2C* (*G68C*) – 9.49%, *5HTR1A* (*C(-1019)G*) – 3.74%.

Обсуждение. Результаты произведенного GMDR-анализа показывают преобладание в комбинациях, коррелирующих с высокими показателями невербального и вербального интеллекта, немутантных аллелей, определяющих нормальную работу серотонинергической нейромедиаторной системы и, как следствие, быструю и точную передачу нервных импульсов. Исключение составляет наличие мутантного генотипа *5HTR1A* *G/*G, определяющего высокую скорость обратного захвата серотонина в синапсе.

Напротив, в сочетаниях генотипов, коррелирующих с низкими показателями невербального и вербального интеллекта, преобладают мутантные аллели, снижающие скорость и точность передачи нервных импульсов. Исключение составляет немутантный генотип *5HTR2C* *G/*G, не ассоциированный с низкими показателями интеллекта.

MDR-анализ ген-генных взаимодействий, связанных с формированием высоких показателей невербального интеллекта, показал, что между локусами *5HTR1A* и *5HTR2C* выявлено антагонистическое взаимодействие, при этом гены *5HTR2C* и *SLC6A4* работают независимо друг от друга. Также антагонистическое взаимодействие наблюдается между генами *5HTR1A* и *SLC6A4*. Наибольший вклад в формирование признака «невербальный интеллект» вносит локус *SLC6A4* (*5-HTTLPR*) (6.73%).

MDR-анализ ген-генных взаимодействий, связанных с формированием высоких показателей вербального интеллекта, показал, что между локусами *5HTR1A* и *SLC6A4* выявлено слабое антагонистическое взаимодействие, при этом ген *5HTR2C* является сильным антагонистом как для *5HTR1A*, так и для *SLC6A4*. Наибольший вклад в формирование признака «вербальный интеллект» вносит локус *SLC6A4* (*5-HTTLPR*) (15.07%).

Антагонизм между данными генами объясняется тем, что продукт *5HTR1A* осуществляет рецепцию серотонина на пресинапсе, а *5HTR2C* является постсинаптическим рецептором. В дополнении ко всему оба рецептора конкурируют за «рецепцию» одного и того же вещества – серотонина. При этом *SLC6A4* осуществляет захват серотонина для его переноса в синаптическую щель.

ЛИТЕРАТУРА:

Холодная М.А. Психология интеллекта: парадоксы исследования. М.; Томск, 1997 – 272 с.

1. Cattell R.B. Abilities: Their structure, growth and action. Boston: Houghton Mifflin. – 1971.

2. Гумерова О.В. Генетическая обусловленность показателей интеллектуальной деятельности человека. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. – Уфа, 2007 – 23 с.

3. Денисов А. Ф., Дорофеев Е. Д. Культурно свободный тест интеллекта Р. Кеттела (Руководство по использованию). – СПб.: Иматон, 1996. – 17 с.

4. Mathew C.C. The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA // *Methods in molecular Biology* N.Y. 1984 V. 2. P. 31-34.
5. Mullis K.B., Saiki R.K., Scharf S., et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia // *Science*. 1985. P. 487-491.
6. Langdahl B.L., Ralston S.H., Grant S.F., et al. AnSp1 binding site polymorphism in the COLIA1 gene predicts osteoporotic fractures in both men and women // *J bone Miner Res*. 1998. V13(9). P. 1384-1389.
7. Lou X., Chen G.B., Yan L., et al. A generalized combinatorial approach for detecting gene by gene and gene by environment interactions with application to nicotine dependence // *American Journal of Human Genetics*. 2007. №80. P. 1125-1137.

АНАЛИЗ ФЛОРЫ КАРТОФЕЛЬНЫХ ОГОРОДОВ С. СТАРОБАЛТАЧЕВО

Саляхова И.Р., Хусаинов А.Ф.

ФГБОУ ВО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Ключевые слова: жизненные формы, картофельные поля, сорно-полевые виды, экологический спектр.

Краткая аннотация: приводятся данные по инвентаризации сорно-полевой флоры картофельных огородов Балтачевского района. Выявлена и проанализирована флора сеgetальной растительности картофельных полей и огородов исследуемой территории.

Введение

В сельскохозяйственных экосистемах большую роль в сохранения биоразнообразия играют сорно-полевые виды – спутники культурных растений. В отличие от культурных растений, которые человек выбрал сам, сорные растения отобрались сами. В своем происхождении они связаны с земледелием.

Картофель, как наиболее требовательное растение к почвенному плодородию является пропашной широкорядной культурой с междурядьями от 30–35 до 70 см. Картофель как культура имеет низкую конкурентную способность по сравнению с сорно-полевой растительностью. Большое значение для картофеля имеют органические удобрения, вносимые ежегодно. При этом с навозом и перегноем на огороды заносятся и жизнеспособные зачатки сорно-полевых видов. Кроме того, в частных огородах для подавления сорно-полевой растительности не применяются гербициды. Из-за высокого запаса семян сорняков в почве, постоянного поступления извне мы наблюдаем высокую засорённость практически всех картофельных огородов во всех почвенно-климатических зонах Республики Башкортостан.

Видовой состав сорно-полевой флоры картофельных полей и огородов, таким образом, зависит только от почвенно-климатических условий района исследования.

Материалы и методы

С целью инвентаризации сорно-полевой флоры картофельных огородов Балтачевского района было выполнено 10 геоботанических описаний, собрано 150 листов гербарного материала.

В ходе камеральной обработки гербарного материала, была проанализирована структура флоры, т.е. составлены спектры по различным признакам: по жизненным формам, по экологическому спектру по отношению к увлажнению, фитосоциологической структуре.

Результаты и их обсуждение

На основе анализа систематического состава было выявлено что сорно-полевая флора картофельных огородов с. Старобалтачево включает 114 видов, относящихся к 85 родам, 30 семействам. Среднее число видов в семействах равно 3,8, родов – 2,8%. Среднее число видов в родах – 1,3% [1,2].

При анализе жизненных форм были использованы широко распространенные системы К. Раункиера и И.Г. Серебрякова [3,4].

Анализ сорно-полевой флоры картофельных огородов с. Старобалтачево показывает, что для ее состава характерно преобладание терофитов (61 вид – 53,5%), что указывает на подвижность субстратов, нарушенность растительности и ее синантропизацию.

Другой массово представленной жизненной формой являются гемикриптофиты (47 видов – 41,2%). Это свидетельствует о внедрении видов естественных растительных сообществ (степных и луговых).

Согласно классификации И.Г. Серебрякова больше половины видов флоры составляют монокарпические растения (70 видов – 61,4%), которые представлены однолетниками (55 видов – 48,2%), двулетниками (9 видов – 7,9% и одно-, двулетниками (6 видов – 5,2%), большая часть которых являются адвентивными видами.

Вторую по величине группу составляют поликарпические растения (43 вида – 37,7%), среди которых преобладают стержнекорневые растения (10 видов – 8,8%) и длиннокорневищные растения (9 видов – 7,9%). Основную часть поликарпических трав составляют аборигенные виды растений.

Следует отметить также невысокую долю деревьев (1 вид – 0,9%), что связано с поступлением зачатков этих растений из близлежащих лесных массивов.

Экологический спектр видов по отношению к фактору увлажнения, составленного с использованием шкалы Л.Г. Раменского [5] показал преобладание видов мезофитной ориентации: мезофиты (88 видов – 77,1%), мезогигрофиты (3 вида – 2,7%), мезоксерофиты (2 вида – 1,8%), т.е. растения умеренно увлажненных местообитаний (*Echinochloa crusgalli*, *Kochia scoparia*, *Neslia paniculata*, *Setaria viridis*, *Persicaria lapathifolia* и др.).

Второе место по числу видов занимают ксеромезофиты (13 видов – 11,4%), растения сухих местообитаний, имеющие приспособления позволяющие переносить перегрев и обезвоживание, занимающие промежуточное место между ксерофитами и мезофитами, что объясняется наличием больших нарушенных площадей, где отсутствует естественный растительный покров (*Calamagrostis epigeios*, *Solanum nigrum*, *Cichorium intybus* и др.).

Представленность видов гигрофитной ориентации невысока: гигрофиты (5 видов – 4,3%), гигромезофиты (3 вида – 2,7%) – растения переувлажненных почв (*Agrostis gigantea*, *Agrostis stolonifera*, *Bidens tripartita*, и др.). Наличие гигрофитной группы объясняется близким залеганием грунтовых вод к дневной поверхности во многих участках.

Фитосоциологический анализ (табл. 1) показал, что сорно-полевая флора картофельных огородов с. Старобалтачево разнообразна и включает виды как естественных сообществ (18,4%), так и синантропной растительности, связанных с влиянием человека (73,4%).

В составе синантропной флоры (84 вида – 73,4%) преобладают виды начальной стадии сукцессий, распространенные по постоянно нарушаемым местообитаниям, полям, огородам – виды класса *Stellarietea mediae* (48 видов – 42,1%) – *Amaranthus retroflexus*, *Brassica campestris*, *Raphanus raphanistrum*, *Sonchus arvensis* и др. Большую роль играют двулетние и многолетние рудеральные растения последующих стадий восстановительной сукцессии – виды класса *Artemisietea vulgaris* (17 видов – 15%): рудеральные сообщества высокорослых ксеро-мезофитных сорных видов порядка *Onopordetalia acanthii* (9 видов – 8%) – *Carduus crispus*, *Cichorium intybus*, *Euphorbia virgata*, *Hyoscyamus niger* и др., рудеральные сообщества дву- и многолетних мезофитных сорных видов порядка *Artemisietalia vulgaris* (4 вида – 3,5%) – *Artemisia absinthium*, *Artemisia vulgaris*, *Conium maculatum*, *Pastinaca sylvestris*, рудеральные многолетние злаковники порядка *Agropyretalia repentis* (4 вида – 3,5%) – *Calamagrostis epigeios*, *Elytrigia repens*, *Tussilago farfara*, *Vicia sepium* и др.

Таблица 1

**Фитосоциологический спектр флоры картофельных огородов
с. Старобалтачево**

Классы, порядки	Число видов /%
Виды естественных классов	
<i>Molinio-Arrhenatheretea</i>	15/13,1
<i>Quercu-Fagetea</i>	3/2,8
<i>Festuco-Brometea</i>	1/0,8
<i>Trifolio-Geranietea sanguinei</i>	1/0,8
<i>Phragmito-Magnocaricetea</i>	1/0,8
Всего	21/18,4
Виды синантропных классов, порядков	
<i>Stellarietea mediae</i>	48/42,1
<i>Polygono arenastri-Poetea annuae</i>	10/8,7
<i>Onopordetalia acanthii</i>	9/8
<i>Bidentetea tripartitae</i>	6/5,2
<i>Artemisietalia vulgaris</i>	4/3,5
<i>Agropyretalia repentis</i>	4/3,5
<i>Galio-Urticetea</i>	1/0,8
<i>Epilobietea angustifolii</i>	1/0,8
<i>Robinietea</i>	1/0,8
Всего	84/73,4
Прочие виды	9/8

В составе синантропных растений также много видов сообществ вытаптываемых и перевыпасаемых умеренно увлажненных сообществ класса *Polygono arenastri-Poetea annuae* (10 видов – 8,7%) – *Agrostis stolonifera*, *Chenopodium glaucum*, *Lepidotheca suaveolens* и др.

Шесть видов (5,2%) представляют синантропные сообщества нарушенных переувлажненных местообитаний класса *Bidentetea tripartitae* (*Bidens tripartita*, *Epilobium montanum*, *Myosoton aquaticum* и др.).

Одним видом (0,8%) представлены нитрофильные сообщества затененных мест и опушек в лесопарках и скверах, в поймах рек класса *Galio-Urticetea* (*Urtica dioica*); сообщества вырубок и гарей *Epilobietea angustifolii* (*Chamaenerion angustifolium*); городская спонтанная древесная растительность класса *Robinietea* (*Chelidonium majus*).

На долю классов естественной растительности приходится 21 вид (18,4%), что подтверждает значимую роль зонального типа растительности в процессе антропогенного флорогенеза на техногенных участках. Виды естественных классов показывают связь флоры огородов с исходной коренной растительностью – степями, лугами, лесами.

В состав флоры картофельных огородов с. Старобалтачево входят:

– виды вторичных послелесных лугов класса *Molinio-Arrhenatheretea* (15 видов – 13,1%), такие, как *Agrostis gigantea*, *Galium album*, *Stellaria graminea* и др.);

– лесные виды класса широколиственных лесов *Quercu-Fagetea* (3 вида – 2,8%), к примеру, *Geum urbanum*, *Poa nemoralis*, *Ulmus laevis*.

– степной вид класса *Festuco-Brometea* (1 вид – 0,8%) – *Bromopsis inermis*.

– вид луговых сообществ лесных опушек и редколесий класса *Trifolio-Geranietea* (1 вид – 0,8%) – *Hypericum perforatum*.

– вид околоводных сообществ гелофитов класса *Phragmito-Magnocaricetea* (1 вид – 0,8%) – *Stachys palustris*.

Выводы

Результаты исследований могут быть использованы для прогнозирования вспышек численности сорных растений, разработки мер контроля засоренности различных пропашных культур. Картофельные огороды могут являться местом проведения экскурсий и занятий со школьниками.

ЛИТЕРАТУРА

1. Определитель высших растений Башкирской АССР в 2-х томах под ред. Кучерова Е.В. Наука, 1988. – 316 с. – 1989. – 375 с.

2. Толмачев А.И. Введение в географию растений. – Л.: Изд-во Ленингр. гос. ун-та, 1974. – 244 с.

3. Горышина Т.К. Экология растений. М.: Высш. школа, 1979. - 364 с.

4. Миркин Б.М., Наумова Л.Г. Наука о растительности (история и современное состояние основных концепций). – Уфа, 1998. – 413 с.

4. Наумова Л.Г., Хусаинов А.Ф. Научно-исследовательская деятельность студентов: изучение флоры населенных пунктов. Учебно-методическое пособие для бакалавров и магистров. – Уфа, 2010. – 116 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ СИСТЕМЫ СВЕРТЫВАНИЯ ПРИ «ЗАМЕРШЕЙ» БЕРЕМЕННОСТИ

Фатыхова Э.А., Горбунова В.Ю.

ФГБОУ ВО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Ключевые слова: метилентетрагидрофолатредуктаза, фолатный цикл, патология беременности, тромбофилия.

Введение: В настоящее время тромбофилия признается интегральным этиопатологическим фактором широкого спектра осложнений, обуславливая, в том числе и осложнения беременности, гормональной контрацепции и заместительной гормональной терапии, бесплодие, замирание беременности и ранние преэмбрионические потери[2].

Физиологическая беременность сама по себе является тромбофилическим состоянием, при котором риск венозных тромбозов повышается в 5-6 раз[3].

Наследственные тромбофилические нарушения гемостаза усугубляют физиологическую гиперкоагуляцию во время беременности.

Распространенным геном свертывающей системы является MTHFR. Нарушение его функционирования способствует внутрисосудистым тромбообразованиям, что, в худшем, ведет к смерти плода[1].

Цель: Анализ частот аллелей и генотипов по гену метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) и изучение роли в патологии беременности для выявления группы риска.

Материалы исследования: материалом исследования являлись образцы ДНК, полученные из цельной венозной крови 100 женщин, проживающих на территории Республики Башкортостан.

Образцы крови были предоставлены Республиканским перинатальным центром г. Уфа.

Исследования были проведены в лаборатории Центра молекулярно-генетических исследований Башкирского Государственного Педагогического университета им. М. Акмуллы.

У каждого обследованного человека было взято согласие на проведение анкетирования и генетических исследований.

Методы: биохимические методы (выделение ДНК методом фенольно-хлороформной экстракции по Mathew), молекулярно-генетические методы (ПЦР по Mullis, гель-электрофорез по Маниатису), статистические методы (закон Харди-Вайнберга, статистический закон расщепления (χ^2), метод 2×2).

Результаты и обсуждения: При изучении полиморфизма rs1801133 гена MTHFR было установлено, что SNP замена С на Т (транзиция) в локусе 26.3 приводит к возникновению мутации и в результате, это приводит к увеличению концентрации гомоцистеина в крови, что, в свою очередь,

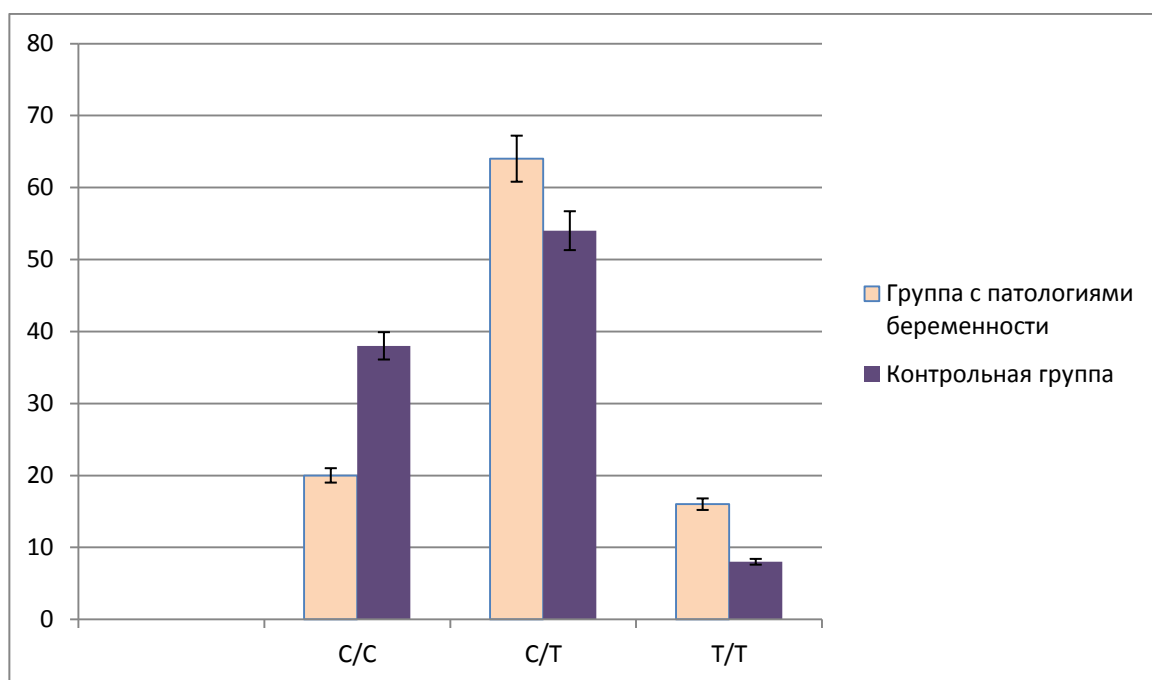
способствует активации прокоагулянтов, тканевого фактора. Нарушение синтеза белка 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы является фактором развития тромбофилии.

Молекулярно-генетический анализ полиморфизма *rs1801133* гена *MTHFR* показал наличие в выборке из 100 женщин двух аллелей (С и Т) и трех генотипов (СС, СТ, ТТ). В выборке присутствовали женщины имеющие патологию беременности (замершая беременность, угроза прерывания беременности, плацентарная недостаточность, маловодие) и контрольная группа, включающая в себя женщин с нормальным протеканием беременности.

Статистический анализ распределения частот генотипов и аллелей в двух группах, с патологией беременности и контрольной по Харди-Вайнбергу.

Результаты распределения частот генотипов и аллелей полиморфного локуса *rs1801133* гена *MTHFR* для контрольной группы и группы с патологией беременности представлены в диаграмме 1.

Диаграмма 1.



В опытной и контрольной группах достоверных различий не выявлено. Изучение распределения частот генотипов в обследованных группах показало преобладание гетерозиготного генотипа СТ (64% у группы с патологией беременности, 54% у контрольной). Наиболее редко встречается генотип ТТ (16% у группы с патологией беременности, 8% у контрольной).

Частоты аллелей также отличаются друг от друга, наблюдается снижение частоты аллеля *С и повышение частоты мутантного аллеля Т в группе с патологией беременности.

Выводы: при популяционном анализе *rs1801133* гена *MTHFR* выявлено, что в обследованных группах преобладает гетерозиготный генотип СТ и частота аллеля *С снижается среди женщин, имеющих патологию беременности. Наблюдается повышение частоты мутантного аллеля *Т в группе с патологией беременности, поскольку аллель *Т и генотип Т/Т приводят к дефициту фолиевой кислоты, который необходим для формирования нервной трубки плода, и накоплению гомоцистеина в крови, что способствует ее гиперкоагуляции.

Использованная литература:

1. Блинецкая С.Л., Основные наследственные тромбофилии и их роль при привычном невынашивании беременности: диссертация/ М.:2009-154с.
2. Макацария А.Д., Тромбофилия и противотромбическая терапия в акушерской практике: монография / А.Д. Макацария, В.О. Бицадзе.-М.: Триада-Х, 2003.-235с.-Библиогр.:с.7-8.
3. Georg-Friedrich, von Tempelhof. Incidence of the Factor V Leiden-mutation, Coagulation Inhibitor Deficiency, and Elevated Antiphospholipid – antibodies in Patients with Preeclampsia or HELLP-Syndrome. [text]/ Georg-Friedrich. Von Tempelhoff [et al]// Thrombosis Research.-2000.-P.363-365с.

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ СОРТОВ *CITRUS MEDICA IN VITRO*

Филиппова Д.С., Гильмаева А. В., Абрамов С. Н., Горбунова В. Ю.
ФГБОУ ВО «БГПУ им. М.Акмиллы», г. Уфа

Садыкова Ф.В.

к.б.н., заведующий, Учебно-опытное хозяйство ГБОУ СПО «Уфимский
лесхоз-техникум»

Ключевые слова: культура *in vitro*, оптимизация состава сред, *C. medica*, эксплант, питательная среда, фитогормоны, индолилуксусная кислота (ИУК), 6-бензиламинопурин (6-БАП).

Краткая аннотация. Рассмотрены особенности культивирования *in vitro* сортов *C. medica*. Оптимизирован фитогормональный состав (ИУК, 6-БАП) питательной среды МС для каллусогенеза и морфогенеза.

Введение. Цитрусовые являются одними из важнейших плодовых культур. Их распространению способствовала урожайность и ценность плодов. Плоды имеют не только высокие вкусовые качества, а также имеют в своем составе сахара, органические кислоты (лимонную, аскорбиновую, яблочную), ряд витаминов, биологически активные вещества и минеральные соли, а кожура плодов и листья являются источником эфирных масел. К тому же цитрусовые высоко ценятся как декоративные растения [1].

Новые возможности для решения проблемы получения экологически чистой сельскохозяйственной продукции открывают современные методы биотехнологии растений. Их применение, наряду с традиционными методами селекции, позволяет значительно ускорить процесс получения ценных форм растений с хорошими вкусовыми и товарными качествами плодов, высоким адаптивным потенциалом, пригодных для интенсивных технологий возделывания [2].

В практике зарубежной и отечественной биотехнологии накоплен достаточно большой опыт по культивированию растений *in vitro*, позволяющий при необходимости обеспечить разработку метода клонального микроразмножения практически любой культуры. Включенный в систему производства посадочного материала этот метод обеспечивает ряд бесспорных преимуществ по сравнению с другими способами размножения. Это, прежде всего, существенное повышение комплексности и эффективности оздоровления, быстрое размножение единичных ценных экземпляров, длительное хранение материала [2].

Цель исследования: оптимизировать условия культивирования *in vitro* различных сортов *C. medica*.

Задачи:

1. Выявить возможные пути морфогенеза эксплантов цитрона.
2. Оптимизировать фитогормональный состав питательной среды для индукции каллусогенеза в культуре сортов *C. medica in vitro*.
3. Оптимизировать фитогормональный состав питательной среды для индукции морфогенеза *in vitro* в культуре сортов *C. medica in vitro*.

Материалы и методы. Для изучения процессов морфогенеза в качестве материала были использованы растения различных сортов цитронов: Павловский, Уралтау, Зиля и Рука Будды, любезно предоставленные руководителем Учебно-опытного хозяйства ГБОУ СПО «Уфимский лесхоз-техникум» («Лимонарий») Садыковой Ф. В.

Перед изолированием эксплантов черенки нарезали на сегменты: пазушные почки длиной 0,3 - 0,5 см, которые стерилизовали по стандартным методикам [3].

Инокулировали экспланты надсеченной стороной на питательную среду.

Для приготовления питательных сред использовали реактивы высокой степени очистки (квалификация не ниже «чда»).

Культивирование эксплантатов проводилось на питательной среде *Murashige, Skoog* (1962 г.) по стандартной прописи [4].

Высаженный материал культивировался при естественном освещении при 22 - 24°C и относительной влажности 70-80 %.

Оптимизацию концентрации фитогормонов для культивирования проводили методом подбора различных концентраций фитогормонов: в качестве цитокинина использовали 6 – бензиламинопуридин (6-БАП), в качестве ауксинов – индолилуксусную кислоту (ИУК).

Результаты и обсуждение. Оптимизацию концентрации фитогормонов для индукции морфогенеза из эксплантов для культивирования *in vitro* проводили методом подбора различных концентраций фитогормонов. Было опробовано 25 вариантов питательной среды МС для каждого сорта, различающихся по концентрации ИУК/6-БАП, представленные в таблицах 1 – 4.

Оценка эффективности каллусогенеза и морфогенеза в культуре *in vitro* производилась на 13-14-е сутки после инокуляции эксплантов на питательную среду.

Таблица 1

Продуктивность морфогенеза и каллусогенеза в культуре пазушных почек сорта **Павловский**

ИУК (мг/л) 6-БАП (мг/л)	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0
1,0	0	0	0	100 ^к	0

1,5	0	0	0	50 ^к	0
2,0	0	28 ^к	0	0	0
2,5	0	0	0	0	0
3,0	0	0	100^к	0	0

К - отмечен процент каллусогенеза (число полученных культур с появлением признаков каллусогенеза к числу инокулированных эксплантов x 100%).

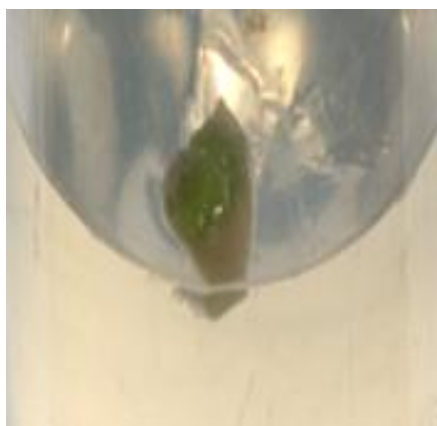


Рис. 1. Каллусная масса, образовавшаяся на экспланте сорта Павловский при концентрации гормонов 2.0 мг/л 6-БАП и 3.0 мг/л ИУК, 13 сутки



Рис. 2. Каллусная масса, образовавшаяся на экспланте сорта Павловский при концентрации гормонов 1.5 мг/л 6 – БАП и 2.0 мг/л ИУК, 13 сутки

Исходя из полученных данных, видно, что основным индуктором каллусогенеза является 6-БАП. Можно предположить, что для индукции морфогенеза, необходимы более высокие концентрации ИУК или же другой фитогормон ауксинового ряда.

Таблица 2

Продуктивность морфогенеза и каллусогенеза
в культуре пазушных почек сорта **Зиля**

ИУК (мг/л) 6-БАП (мг/л)	ИУК (мг/л)				
	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0
1,0	0	0	50 ^к	0	0
1,5	66 ^к	0	0	0	0
2,0	100^м	0	100^к	100^м	0
2,5	0	0	0	0	0
3,0	0	0	0	100^к	0

К- отмечен процент каллусогенеза (число полученных культур с появлением признаков каллусогенеза к числу инокулированных эксплантов x 100%).

М - частота индукции морфогенеза (число полученных культур с появлением признаков морфогенеза к числу инокулированных эксплантов x 100%).

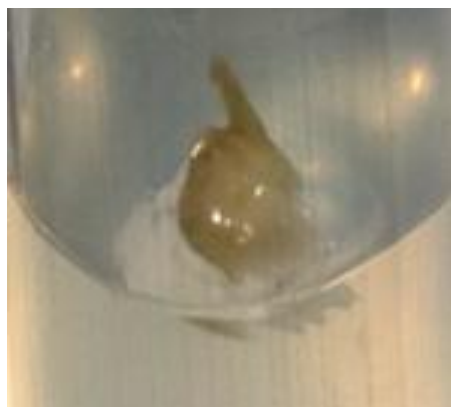


Рис. 3. Индукция морфогенеза в культуре пазушных почек сорта Зиля при концентрации гормонов 1.0 мг/л 6 – БАП и 2.0 мг/л ИУК, 14 сутки



Рис. 4. Каллусная масса, образовавшаяся на экспланте сорта Зиля при концентрации гормонов 2.5 мг/л 6 – БАП и 3.0 мг/л ИУК, 13 сутки

Таблица 3

Продуктивность морфогенеза и каллусогенеза в культуре пазушных почек сорта **Уралтау**

6-БАП (мг/л) \ ИУК (мг/л)	ИУК (мг/л)				
	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0
1,0	0	0	0	0	0
1,5	50 ^М	0	0	0	0
2,0	33 ^М	16 ^К	33 ^М	33 ^К	0
2,5	0	0	0	0	0
3,0	50 ^М	100 ^М	0	0	0

К- отмечен процент каллусогенеза (число полученных культур с появлением признаков каллусогенеза к числу инокулированных эксплантов x 100%).

М - частота индукции морфогенеза (число полученных культур с появлением признаков морфогенеза к числу инокулированных эксплантов x 100%).



Рис. 5. Индукция морфогенеза в культуре пазушных почек сорта Уралтау при концентрации гормонов 1.0 мг/л 6 – БАП и 3.0 мг/л ИУК, 14 сутки

Рис. 6. Индукция морфогенеза в культуре пазушных почек сорта Уралтау при концентрации гормонов 1.0 мг/л 6 – БАП и 2.0 мг/л ИУК, 14 сутки

Исходя из полученных данных, видно, что основным индуктором каллусогенеза и морфогенеза является 6-БАП и ИУК.

Таблица 4

Продуктивность морфогенеза и каллусогенеза в культуре пазушных почек сорта **Рука Будда**

ИУК (мг/л) 6-БАП (мг/л)	ИУК (мг/л)				
	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0
1,0	0	0	33 ^М	0	0
1,5	33 ^М	100 ^М	33 ^К	100 ^К	0
2,0	100 ^М	33 ^М	50 ^М	33 ^М	0
2,5	0	0	0	44 ^М	0
3,0	0	0	100 ^М	0	0

К- отмечен процент каллусогенеза (число полученных культур с появлением признаков каллусогенеза к числу инокулированных эксплантов x 100%).

М - частота индукции морфогенеза (число полученных культур с появлением признаков морфогенеза к числу инокулированных эксплантов x 100%).

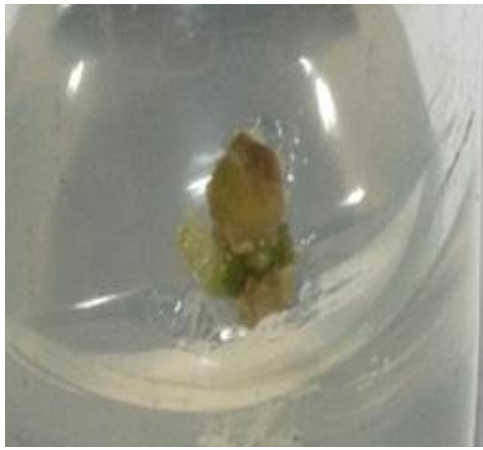


Рис. 7. Индукция морфогенеза в культуре пазушных почек сорта Рука Будда при концентрации гормонов 1.5 мг/л 6 – БАП и 1.5 мг/л ИУК, 14 сутки



Рис . 8. Индукция морфогенеза в культуре пазушных почек сорта Рука Будда при концентрации гормонов 2.0мг/л 6 – БАП и 1.0 мг/л ИУК, 13 сутки

Исходя из полученных данных, видно, что основным индуктором морфогенеза является 6- БАП, для каллусогенеза - ИУК.

Заключение. Среди проанализированных концентраций фитогормонов ИУК и 6- БАП в питательной среде эмпирическим путем были выявлены их оптимальные соотношения для индукции каллусогенеза и морфогенеза в культуре *in vitro*.

Выводы:

1) Полученные экспериментальные данные свидетельствует о разной реакции сортов цитрона на культивирование *in vitro*. У большинства сортов цитронов активно шла индукция морфогенеза, а именно геммогенеза, но на некоторых также наблюдался каллусогенез.

2) Эмпирически подобраны оптимальные для индукции каллусогенеза комбинации концентраций фитогормонов:

- 1) 2.5 мг/л ИУК : 1.0 мг/л 6-БАП- сорт Павловский
- 2) 2.5 мг/л ИУК : 1.5 мг/л 6-БАП- сорт Павловский
- 3) 1.5 мг/л ИУК : 2.0 мг/л 6-БАП- сорт Павловский
- 4) 2.0 мг/л ИУК : 3.0 мг/л 6-БАП- сорт Павловский
- 5) 1.0 мг/л ИУК : 2.0 мг/л 6-БАП- сорт Зиля
- 6) 1.5 мг/л ИУК : 1.0 мг/л 6-БАП- сорт Зиля
- 7) 2.0 мг/л ИУК : 2.0 мг/л 6-БАП- сорт Зиля
- 8) 3.0 мг/л ИУК : 2.5 мг/л 6-БАП- сорт Зиля
- 9) 1.5 мг/л ИУК : 2.0 мг/л 6-БАП- сорт Уралтау
- 10) 2.5 мг/л ИУК : 2.0 мг/л 6-БАП- сорт Уралтау
- 11) 2.0 мг/л ИУК : 1.5 мг/л 6-БАП- сорт Рука Будда
- 12) 2.5 мг/л ИУК : 1.5 мг/л 6-БАП- сорт Рука Будда

3) Эмпирически подобраны оптимальные для индукции каллусогенеза комбинации концентраций фитогормонов:

- 1) 2.0 мг/л ИУК : 1.0 мг/л 6-БАП- сорт Зиля
- 2) 2.0 мг/л ИУК : 2.5 мг/л 6-БАП- сорт Зиля
- 3) 1.0 мг/л ИУК : 1.5 мг/л 6-БАП- сорт Уралтау
- 4) 1.0 мг/л ИУК : 2.0 мг/л 6-БАП- сорт Уралтау
- 5) 2.0 мг/л ИУК : 2.0 мг/л 6-БАП- сорт Уралтау
- 6) 1.0 мг/л ИУК : 3.0 мг/л 6-БАП- сорт Уралтау
- 7) 1.5 мг/л ИУК : 3.0 мг/л 6-БАП- сорт Уралтау
- 8) 2.0 мг/л ИУК : 1.0 мг/л 6-БАП- сорт Рука Будда
- 9) 1.0 мг/л ИУК : 1.5 мг/л 6-БАП- сорт Рука Будда
- 10) 1.5 мг/л ИУК : 1.5 мг/л 6-БАП- сорт Рука Будда
- 11) 1.0 мг/л ИУК : 2.0 мг/л 6-БАП- сорт Рука Будда
- 12) 1.5 мг/л ИУК : 2.0 мг/л 6-БАП- сорт Рука Будда
- 13) 2.0 мг/л ИУК : 2.0 мг/л 6-БАП- сорт Рука Будда
- 14) 2.5 мг/л ИУК : 2.0 мг/л 6-БАП- сорт Рука Будда
- 15) 2.5 мг/л ИУК : 2.5 мг/л 6-БАП- сорт Рука Будда
- 16) 2.0 мг/л ИУК : 3.0 мг/л 6-БАП- сорт Рука Будда

Таким образом, проанализировав полученные данные, можно предположить, что наиболее оптимальным является снижение концентрации ИУК, т.е. ауксинов, и повышение концентрации 6 – БАП, т.е. цитокининов, для эффективного морфогенеза. В дальнейшем планируется оптимизация селекционных сред для индукции ризогенеза, геммогенеза и гемморизогенеза.

Оптимизация приемов клонального микроразмножения цитрусовых позволит создать и поддерживать резервную коллекцию, сохранить на небольших производственных площадях накопленный генофонд для дальнейшего использования в селекционных и практических целях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Самарина Л.С., Коломиец Т.М., Горшков В.М.. Биотехнология цитрусовых культур: перспективы и достижения. // Садоводство и виноградарство – 2010 - № 5.
2. В. Б. Белокурова, Е. В. Листван, П. Д. Майстров [и др.] // Цитология и генетика. - 2005. - С. 41-42.
3. Шевелуха В.С., Калашникова Е.А., Воронин Е.С. и др. Сельскохозяйственная биотехнология. - Учебник. М.: Высшая школа, 2003. - 469 с.
4. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: Учеб. пособие.- М.: ФБК-ПРЕСС, 1999.- 160 с.

БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МИССЕНС-МУТАЦИЙ ГЕНА CDK4

Чумак М.А., Николаев И.В., к.б.н. Воробьева Е.В.

ФГБОУ ВО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Ключевые слова: *CDK4*, миссенс-мутации, транскрипционные факторы, сайты связывания транскрипционных факторов, онкопатология, биоинформатические методы

Краткая анотация: показано влияние миссенс-мутаций на изменение сайтов связывания транскрипционных факторов, изменение структуры белка *CDK4* и их возможное влияние на развитие онкопатологии.

Введение. Биоинформатика – это наука, изучающая применение информационных технологий для управления биологическими данными, является продолжением вычислительной биологии, изучающей применение методов количественного анализа в моделировании биологических систем (Огурцов А.Н., 2013). С помощью современных биоинформатических методов можно проводить анализ мутаций, изучать их влияние на транскрипцию того или иного гена. Они позволяют изучить изменения сайтов связывания транскрипционных факторов и их влияние на общий каскад реакций, протекающих внутри как клетки, так и всего человеческого организма.

Ген *CDK4* является относительно компактным геном, который охватывает 4,16 кб геномной ДНК на длинном плече двенадцатой хромосомы. Он состоит из восьми экзонов (Zuo et al., 1996), из которых первый экзон некодирующий. Стартовый кодон расположен в начале второго экзона и стоп-кодон в начале восьмого экзона. Этот ген кодирует белок, состоящий из 303 аминокислот (Zuo et al., 1996) с предполагаемой молекулярной массой 33,7 кДа. Белок *CDK4* является членом семьи протеинкиназы Ser-Thr и его каталитический домен простирается от 6-й до 295-й аминокислоты. Этот белок очень похож на генные продукты *S.cerevisiae*, *CDC28* и *S. pombe* *CDC2* ([Kitagawa M., et al, 1996](#)). Белок *CDK4* экспрессируется как в нормальных клетках и тканях, так и в раковых клетках. Его избыточная выработка наблюдается в опухолях человека, таких, например, как злокачественная меланома, глиома, саркома и карцинома молочной железы, толстой кишки, легких, яичников и полости рта. Мутации в этом гене, а так же в связанные с ними белки, включая циклины D-типа, p16 (INK4a) и Rb, были найдены и связаны с туморогенезом разнообразных видов рака ([Zuo L., et al, 1996](#)).

Целью настоящей работы является изучение возможности анализа взаимосвязи миссенс-мутаций гена *CDK4* с развитием онкопатологии методами *in silico*.

Задачи исследования:

- 1) Использование современных биоинформатических методов для анализа свойств миссенс-мутаций гена *CDK4* и его продукта.
- 2) Сопоставление полученных в ходе исследования данных с литературными источниками.

Материалы и методы: база данных *GenBank GENE* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=>) – определение локализации той и иной однонуклеотидной замены.

База данных *GenBank SNP* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>) – информация по однонуклеотидным и аминокислотным последовательностям.

Программа «*TFSCAN*» (<http://mobyli.pasteur.fr/cgi-bin/portal.py#forms::tfscan>) – проведение сравнения наличия сайтов связывания транскрипционных факторов в последовательностях с мутацией и без нее.

Программа «*ProtParam*» (<http://web.expasy.org/protparam/>) – анализ и сравнение свойств аминокислотной последовательности с мутацией и без нее.

Программа «*STRING-DB*» (<http://string-db.org>) – анализ изменения регуляторно-сигнальных клеточных каскадов

Результаты и обсуждение. По гену *CDK4* известно 94 миссенс-мутации, которые расположены со второго по восьмой экзон. Меньше всего мутаций обнаружено в шестом экзоне (две мутации), самое большое количество мутаций на седьмом экзоне (20 мутаций). Затем с помощью программы «*TFSCAN*» были исключены те мутации, которые не меняют возможные сайты связывания транскрипционных факторов, то есть не влекут за собой изменения клеточного реакционного каскада. Из 94 мутаций было отобрано 11. Было проведено сравнение полученных данных с литературными источниками. Сопоставление с данными Nagasundaram et al., 2015 выявило пять мутаций, в результате которых наиболее вероятно развитие онкопатологии. Моделирование изменения физико-химических свойств белка *CDK4* (табл.1) под влиянием этих мутаций позволило выделить из них две, оказывающие наибольшее влияние на структуру белка и меняющее его свойства.

Таблица 1. Анализ изменения физико-химических свойств белка *CDK4*

Миссенс-мутация, аллель гена	Молекулярная масса белка (Да)	Теоретическая pI* (pH)	Индекс нестабильности	Алифатический индекс
<i>rs2227954, His296Tyr, *C</i>	33729,2	6,51	39,16	89,74
<i>rs2227954, His296Tyr, *T</i>	33755,8	6,46	38,88	89,74
<i>rs373619077, Arg210Gln, *C</i>	33729,2	6,51	39,16	89,74
<i>rs373619077, Arg210Gln, *T</i>	33573,6	6,32	37,36	90,03

* pI – изоэлектрическая точка белка

Мы также провели сравнительный анализ регуляторных каскадов при помощи программы «*STRING-DB*» в норме и при действии мутаций. Этот

анализ показал, что к значительному изменению клеточного регуляторно-сигнального каскада ведет только одна мутация из пяти – *rs373619077* (рис.1).

А)

Б)

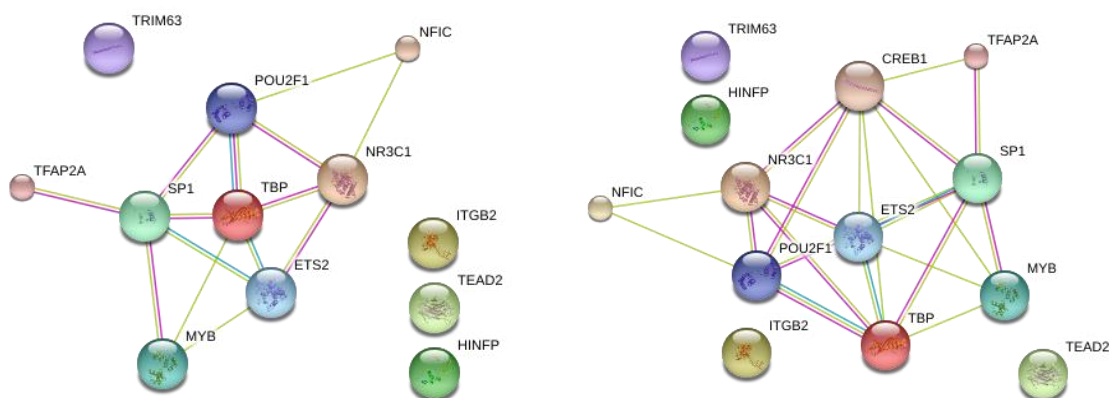


Рис.1 Регуляторные каскады в норме (А) и при мутации *rs373619077* (Б)

Данные, полученные нами, подтверждаются зарубежными исследователями. Так, Nagasundaram et al., 2015 также пришли к выводу, что наиболее опасна и может способствовать развитию онкопатологии мутация *rs373619077*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное нами исследование показало успешность использования современных биоинформатических методов для анализа молекулярно-биологических данных. Поэтапное использование *in silico* инструментов для анализа точковых мутаций гена *CDK4*, а также изучение его продуктов, позволило из 94 рассмотренных мутаций выбрать одну маркерную, оказывающую наибольший эффект на возможное развитие онкопатологии. Сопоставление данных нашего исследования с данными других исследователей являлось фактором оценки правильности полученных нами результатов

Список литературы:

1. Огурцов А.Н. Основы биоинформатики: учеб. пособие / А. Н. Огурцов. – Х. : НТУ «ХПИ», 2013. – 400 с.
2. "Germline mutations in the p16INK4a binding domain of CDK4 in familial melanoma." Zuo L., Weger J., Yang Q., Goldstein A.M., Tucker M.A., Walker G.J., Hayward N., Dracopoli N.C. Nat. Genet. 12:97-99(1996)
3. "Germline mutations in the p16INK4a binding domain of CDK4 in familial melanoma" Zuo L, Weger J, Yang Q, et al. (1996).. Nat. Genet. 12 (1): 97–9.
4. "The consensus motif for phosphorylation by cyclin D1-Cdk4 is different from that for phosphorylation by cyclin A/E-Cdk2." Kitagawa M., Higashi H., Jung H.K., Suzuki-Takahashi I., Ikeda M., Tamai K., Kato J.,

Segawa K., Yoshida E., Nishimura S., Taya Y.EMBO J. 15:7060-7069(1996)

5. “Analysing the Effect of Mutation on Protein Function and Discovering Potential Inhibitors of CDK4: Molecular Modelling and Dynamics Studies” Nagasundaram N, Hailong Zhu, Jiming Liu, Karthick V, George Priya Doss C, Chiranjib Chakraborty, Luonan Chen.. //PLOS ONE. 2015.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФНОГО ВАРИАНТА ГЕНА МЫШЕЧНОЙ ИЗОФОРМЫ КРЕАТИНФОСФОКИНАЗЫ ЧЕЛОВЕКА

Шихмуратова Ч.Д., Е.В. Воробьева

ФГБОУ ВО «БГПУ им.М. Акмуллы», г. Уфа

Краткая аннотация. Проведено молекулярно-генетическое исследование полиморфного варианта rs8111989 гена *СКММ*, в группах спортсменов и индивидов, не имеющих стаж регулярных занятий спортом. Выявлено 3 генотипа и 2 аллеля. В результате попарного сравнения распределения частот генотипов и аллелей выборки спортсменов и контрольной группы достоверных различий не установлено.

Ключевые слова: спортивная генетика, ген *СКММ*

Введение. При решении проблем спортивного отбора и спортивной ориентации, особенно на этапе начального отбора, несмотря на солидный опыт педагогов и тренеров, очень часто (до 40-50 %) случаев составляют неправильные прогнозы успешности отдельных спортсменов. Современные методы спортивной генетики позволяют избежать многих неудачных решений в этом плане с помощью, так называемых, генетических маркеров (генов предрасположенности), обуславливающих формирование, развитие и проявление физических качеств человека [1]. Выявление их имеет большое практическое значение для спортивного отбора и прогнозирования эффективности тренировок. Идентификация генетических маркеров, позволяющих прогнозировать развитие физических качеств человека, имеет большое практическое значение для наиболее эффективного отбора в виды деятельности, связанные с большими физическими нагрузками.

Энергообеспечение мышечной деятельности является одним из факторов, определяющих работоспособность человека [2]. Белковой продукт гена *СКММ* участвует в энергообеспечении краткосрочной мышечной активности высокой интенсивности.

Ген *СКММ* (Creatine Kinase)- кодирует белок КК-М (креатинфосфокиназа), осуществляющий фосфотрансферную реакцию между креатинфосфатом (КФ) и АДФ поставляя вновь синтезированную АТФ к сократительным элементам мышечного волокна. Помимо этого, КК-М участвует в транспорте макроэргического фосфата из митохондрий к сокращающимся миофибриллам. Ген локализован в длинном плече 19-й хромосомы (19q13.2–13.3). Ген имеет в своем составе 8 экзонов и 7 интронов.

В 3'-нетранслируемом регионе гена *СКММ* обнаружен А/Г полиморфизм (замена аденина на гуанин; rs8111989), который может влиять на стабильность мРНК и изменять экспрессию гена. Полиморфизм А/Г также может быть ассоциирован с разной активностью КК-М в миоцитах.

Ингибирование активности КК-М немедленно уменьшает силу и мощность мышечных сокращений, а также приводит к увеличению потребления кислорода сокращающимися мышцами [2].

Исходя из вышесказанного, немаловажное значение имеет исследование индивидуальных особенностей человека к выполнению максимальных физических нагрузок без ущерба для здоровья с учетом его генетической конституции.

Целью работы явилось молекулярно-генетическое исследование функционирования полиморфного варианта гена *СКММ(rs8111989)* в выборке спортсменов.

Материалы и методы. Образцы ДНК 80 индивидов были предоставлены лабораторией Центра молекулярно-генетических исследований Башкирского Государственного Педагогического университета им. М. Акмуллы, где и были проведены исследования. Выборка была разделена на 2 группы: спортсмены и контрольная группа. Главным условием для включения в контрольную группу являлось отсутствие стажа регулярных занятий спортом и спортивного разряда.

Образцы ДНК получены из 10 мл венозной крови человека. ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Анализ полиморфных локусов проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК. ПЦР производилась на амплификаторе «Терцик» с использованием ДНК-полимеразы *Thermus aquaticus* производства фирмы «Силекс». Для амплификации участка ДНК, содержащего полиморфизм *rs8111989* гена *СКММ*, использовались следующие праймеры:

Forward 5'-GGG ATG CTC AGA CTC ACA GA-3';

Reverse 5'-AAC TTG AAT TTA GCC CAA CG-3'

Ожидаемые длины продуктов амплификации 359 п.н. и 206 п.н.+153 п.н. для аллелей *A и *G соответственно. ПЦР проводили по следующей программе: 1) 95С, 7 мин- 1цикл

2)95С -1 мин, 55С- 1 мин, 72С-1,5 мин- 30 циклов;

3)72С- 7 мин- 1 цикл;

4) Хранение: +10С.

Наблюдаемые частоты встречаемости генотипов исследованного локуса проверяли на отклонение от равновесия Харди-Вайенберга. Сравнение распределения частот аллелей и генотипов в обследованных группах проводили методом 2*2 (с поправкой Йейтса). Статистически достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Проведен анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного локуса *rs8111989* гена *СКММ* в выборке спортсменов и контрольной группы. В группе спортсменов было установлено следующее распределение частот аллелей и генотипов: *A – 34,38%, *G – 66,88 %, *A/*A- 13,75% , *A/*G – 41,25%, *G/*G –46,25%. В контрольной

группе частоты распределились следующим образом: *A – 38,75%, *G – 61,25%, *A/*A- 16,25% , *A/*G – 45%, *G/*G – 38,75%.

Проведен попарный анализ распределения частот генотипов и аллелей выборки спортсменов и контрольной группы. При сравнении групп достоверных различий не установлено. Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1

Распределение частот генотипов и аллелей rs8111899 гена SKMM в выборке спортсменов и контрольной группе

ДНК-локус	Генотипы/ Аллели	Группа спортсменов		Контрольная группа		p(χ^2)
		n	p, %	n	p, %	
SKMM rs8111899	AA	11	13,75	13	16,25	0,7998 (0,0651)
	AG	33	41,25	36	45	0,6990 (0,1500)
	GG	36	45	31	38,75	0,5217 (0,4113)
	A	55	34,375	62	38,75	0,4865 (0,4855)
	G	105	65,63	98	61,25	

Так как проведенное исследование носит рекомендательный характер, носителям нормального аллеля могут быть предложены занятия видами спорта с преимущественным проявлением выносливости, а при наличии замены в исследуемом локусе - занятия видами спорта с проявлением качеств быстроты/силы.

Список литературы.

1. Уманец В.А. Спортивная генетика. Курс лекций: Учебное пособие.- Иркутск: Ирк. Фил. РГУФКСИТ, 2010- 129 с.
2. Федотовская Ольга Николаевна. Ассоциация полиморфизмов генов AMPD1, SKMM, G6PC2 и MCT1 человека с мышечной деятельностью различной метаболической направленности: автореферат дис. кандидата биологических наук: 14.03.11 / Федотовская Ольга Николаевна; [Место защиты: Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научный центр физической культуры и спорта»].- Москва, 2012.- 22 с.

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ В ГЕНАХ АКТИНИНА И МИОЗИНА ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ СТУДЕНТОВ

Юсупова Э.И., Воробьева Е.В.

ФГБОУ ВО «БГПУ им. М. Акмуллы», г. Уфа

Ключевые слова. Вегетативный индекс Кердо, коэффициент выносливости, коэффициент экономичности кровообращения, *MYH7*, *ACTN3*.

Аннотация. Проведен анализ распределения частот генотипов и аллелей генов, регулирующих работу ССС в выборке индивидов с различными физиологическими показателями деятельности ССС. Проведение исследования не подтвердило ассоциаций генов *MYH7* и *ACTN3* с физиологическими показателями ССС

Введение. При формировании физической работоспособности у детей организм требует внимания, так как нагрузки вызывают излишнее перенапряжение его систем, что может привести к тяжелым заболеваниям, особенно при наличии скрытой наследственной предрасположенности. Большое внимание ученых направлено на сердечно-сосудистые заболевания, которые характеризуются высокой распространенностью. Сердечно-сосудистые заболевания остаются главной причиной смертности в мире [1]. Адаптация сердечно-сосудистой системы к физическим нагрузкам, а также мышечная деятельность детерминируется генетическими факторами [3].

Основными критериями состояния студентов служат показатели здоровья, развития физической работоспособности - как критерии физического статуса организма; умственной работоспособности во время учебных занятий, экзаменов, а также их успеваемости в зависимости от занятий различными двигательными режимами.

Физическая нагрузка является идеальным и самым естественным видом провакации, позволяющим оценить полноценность физиологических механизмов организма [1].

Состояние сердечно-сосудистой системы (ССС) тесно связано с функционированием скелетных мышечных волокон. Функционирование этих систем находится под строгим контролем генов: *MYH7* и *ACTN3*.

Ген *MYH7* локализован на 14 хромосоме в позиции 14q12 [10, 12], разделяется на 38 экзонов и состоит из 22883 пар нуклеотидных оснований, кодирующих протеин из 1935 аминокислот [9]. Ген бета тяжелой цепи сердечного миозина человека кодирует белок, ассоциированный с гипертрофической кардиомиопатией.

Ген *ACTN3* картирован на длинном плече 11 хромосомы (11q13-q14), состоит из 20 экзонов и 19 интронов. Продукт гена *ACTN3* отвечает за синтез альфа-актина-3, являющегося основным компонентом Z-линий мышечных

саркомеров, который определяет развитие быстрых мышечных волокон II типа [4].

В связи с выше изложенным **целью** работы является сравнительный анализ частот генотипов и аллелей генов бета тяжелой цепи сердечного миозина *MYH7* (*Arg719Gln*) и альфа-актинина 3 *ACTN3* (*R577X*) с физиологическими показателями функционирования сердечно-сосудистой системы у студентов разных курсов.

В соответствии с целью поставлены следующие **задачи**:

1. Определение значений физиологических показателей функционирования сердечно-сосудистой системы: индекса Кердо, коэффициента выносливости, коэффициента экономичности кровообращения.

2. Проведение анализа частот генотипов и аллелей полиморфных вариантов генов *MYH7*, *ACTN3*.

Материалы и методы. Материалом исследования служили образцы ДНК, полученные из цельной венозной крови 90 человек, студенты 2, 3, 4, 5, курсов Башкирского государственного педагогического университета имени М. Акмуллы, которые обучаются на естественно-географическом факультете.

Вся изученная выборка студентов была разделена на группы в зависимости от значения физиологических показателей (расчет индекс Кердо, коэффициент выносливости, коэффициент экономичности кровообращения). Полученные группы разделены на следующие:

- группа 1- студенты с увеличением значений показателя;
- группа 2 - студенты с уменьшением значений показателя.

ДНК из цельной венозной крови выделяли при помощи метода фенольно-хлороформной экстракции [11]. Амплификацию проводили с помощью метода полимеразной цепной реакции синтеза ДНК на амплификаторе. Результаты амплификации оценивались путем проведения электрофореза в 7% полиакриламидном геле (ПААГ) [6]. Окрашивание гелей проводили бромистым этидием с последующей визуализацией ДНК в ультрафиолетовом свете. Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программного обеспечения MS Excel 2003 (Microsoft). При попарном сравнении частот генотипов и аллелей в изучаемых группах использовался критерий χ^2 (Р) для таблиц сопряженности 2x2 (с поправкой Йетса на непрерывность). Различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Для оценки способности ССС к выполнению физической нагрузки были использованы такие косвенные показатели, как коэффициент выносливости (КВ), экономичность кровообращения (КЭК), вегетативный индекс Кердо (ВИК) [2].

Коэффициент выносливости (КВ) устанавливается для анализа состояния ССС. Коэффициент выносливости можно рассчитать по формуле Кваса. $КВ = ЧСС * 10 / ПД$. В норме КВ должен равняться 16. Увеличение этого показателя свидетельствует об ослаблении, а снижение характеризуется

увеличением возможностей сердечно-сосудистой системы [5].

Коэффициент экономичности кровообращения (КЭК) характеризует затраты организма на передвижение крови в сосудистом русле. Принято считать величину коэффициента в норме 2600. Чем больше КЭК, тем экономичнее происходит расходование резервов ССС [7].

Расчет КЭК проводился по следующей формуле:

$$\text{КЭК} = (\text{САД} - \text{ДАД}) * \text{ЧСС}.$$

Для оценки влияния вегетативной нервной системы использовали определение вегетативного индекса Кердо (ВИК). Отрицательная величина означает преобладание ваготонии, а положительная симпатикотонии. При равновесии вегетативной нервной системы этот коэффициент равен нулю. Вегетативный индекс Кердо вычисляется по следующей формуле:

$$\text{ВИК} = (1 - \text{ДАД} : \text{ЧСС}) * 100\%,$$

Результаты и обсуждения. Представлены результаты обследования функционального состояния организмов студентов за время обучения в вузе на основании исследования артериального давления и сердечного ритма.

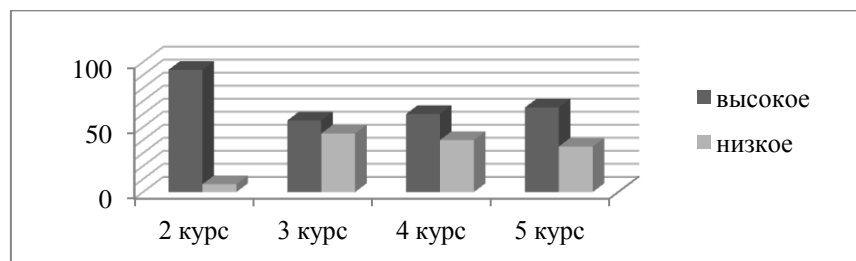


Рис. 1. Распределение коэффициента выносливости по курсам

Анализ показателей КВ показал, что у студентов 2 курса преобладает высокое значение, при этом уровни показателей на 3 и 5 курсах значительно не отличались, к 5 курсу значения КВ по сравнению со 2 курсом понизилось. Увеличение коэффициента выносливости свидетельствует об ослаблении, а снижение характеризуется увеличением возможностей сердечно-сосудистой системы (рис.1).

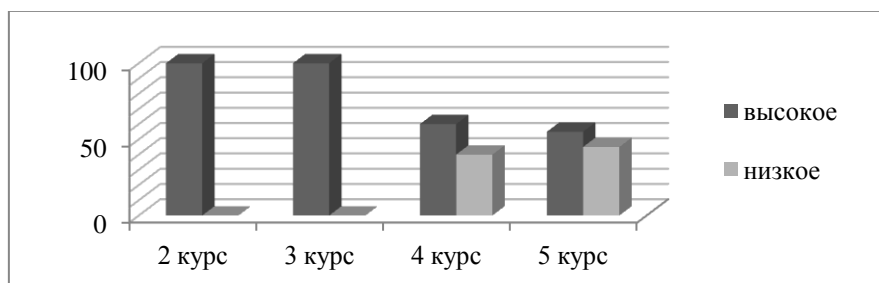


Рис. 2. Распределение коэффициента экономичности кровообращения по курсам

Анализ показателей КЭК показал, что у студентов 2 и 3 курсов преобладают высокие значения, а для студентов 4 и 5 курсов характерно как

высокие, так и низкие значения показателей коэффициента экономичности кровообращения.

Чем меньше величина коэффициента экономичности кровообращения, тем экономичнее происходит расходование резервов ССС. При утомлении это величина повышается (рис.2).

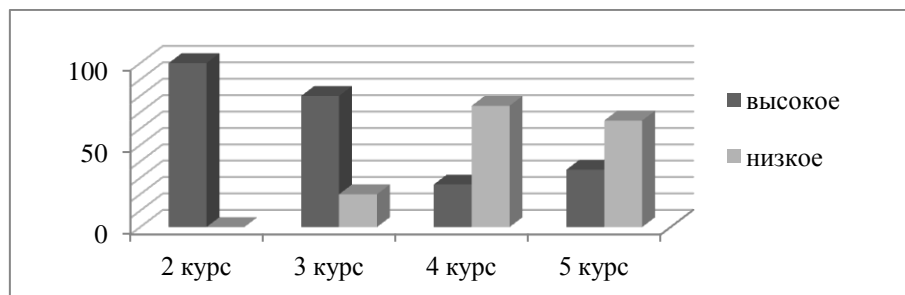


Рис. 3. Распределение вегетативного индекса Кердо по курсам

Анализ индекса ВИК показал, что студентам 2 и 3 курсов характерно только высокие значения индекса Кердо. Увеличение ВИК обусловлено повышенным уровнем влияния вегетативной нервной системы на деятельность сердечно - сосудистой системы. Данное значение индекса Кердо обусловлено увеличением влияния симпатической нервной системы на работу сердечно-сосудистой системы. Влияние симпатической нервной системы приводит к сужению просвета сосудов, к увеличению минутного объема крови и как следствие к возрастанию артериального давления. На 4 и 5 курсах преобладают отрицательные значения вегетативного индекса Кердо. Таким образом, уровень ВИК в течение 2-5 курсов имеет тенденцию к уменьшению ВИК (рис.3).

Отрицательный индекс Кердо показывает на более благоприятный, анаболический вариант метаболизма и экономный режим функционирования, положительный - характеризует об усилении процессов катаболизма, характерного для напряжённого функционирования и расходования резервов организма. Этот показатель характеризует степень приспособления организма к окружающим условиям, при котором отклонение от нулевой линии рассматривается как признак нарушения адаптационных механизмов.

Распределение частот генотипов и аллелей гена *МУН7* у индивидов с различными уровнями КВ, КЭК, ВИК

При попарном сравнении частот генотипов и аллелей с физическими показателями КВ, КЭК, ВИК не обнаружено достоверного повышения частот генотипов и аллелей гена *МУН7*. Распределения частот генотипов и аллелей в выборках с увеличением и уменьшением значений по данным показателям соответствуют распределению Харди-Вайнберга, наблюдаемые результаты соответствуют теоретически ожидаемым ($P > 0.05$) согласно критерию хи-квадрат.

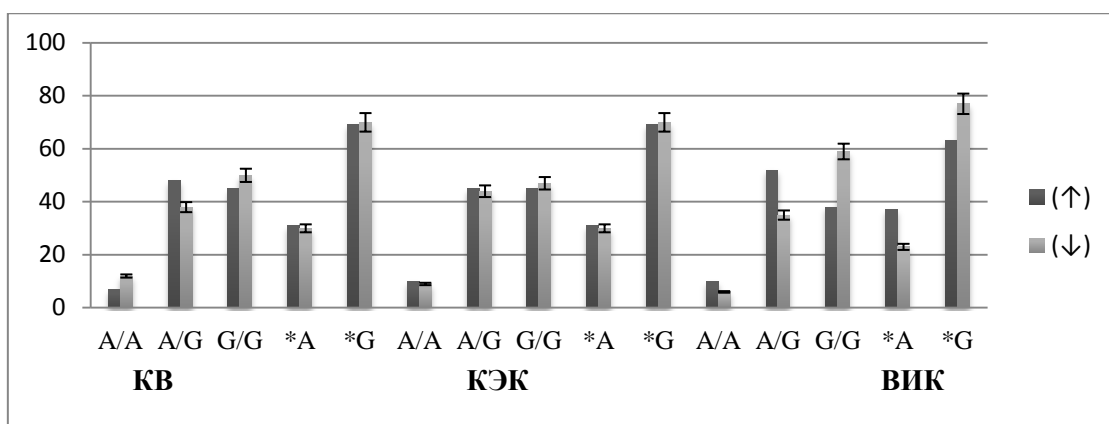


Рис. 4. Распределение частот генотипов и аллелей гена *MYH7* у индивидов с различными уровнями KB, КЭК, ВИК

Распределение частот генотипов и аллелей гена *ACTN3* у индивидов с различными уровнями KB, КЭК, ВИК

Исходя из анализа полученных данных, не выявлено взаимосвязи полиморфного локуса *R577X (rs1671064)* гена *ACTN3* с коэффициентом выносливости, коэффициентом экономичности кровообращения и вегетативным индексом Кердо.

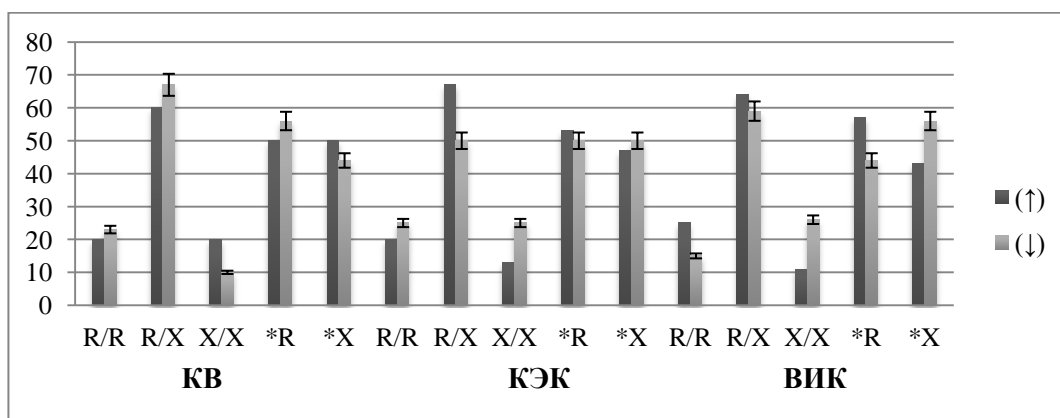


Рис. 5. Распределение частот генотипов и аллелей гена *ACTN3* у индивидов с различными уровнями KB, КЭК, ВИК

По результатам исследования можно сделать следующие выводы:

Распределение частот генотипов и аллелей в генах *ACTN3 (rs1671064)* и *MYH7 (rs735711)* в выборках, сформированные с учетом физиологических показателей работы сердечно-сосудистой системы соответствуют распределению Харди-Вайнберга, наблюдаемые результаты соответствуют теоретически ожидаемым, согласно критерию хи-квадрат.

При анализе ассоциации аллельных вариантов гена актинина и миозина с показателями ССС различия не обнаружены.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян Н. А. Физиология человека / Н. А. Агаджанян, Л. З. Тель, В. И. Циркин, С. А. Чеснокова. – М.: Медицинская книга, Н. Новгород : НГМА, 2003. – 528 с.
2. Баевский Р.М. Оценка функционального состояния организма на основе математического анализа сердечного ритма: методические рекомендации / Составители Р.М. Баевский [и др]. – Владивосток: ДВО АН СССР, 1988. – 72 с.
3. Ворошин И.Н., Ахметов И.И. Астратенкова И.В. Ассоциации полиморфизмов генов с уровнем развития специальной выносливости у бегунов на 400 метров // Научно-теоретический журнал « Ученые записки». - 2007. - №3(25). – с. 9-15
4. Дружевская А.М., Любаева Е.В., Нетреба А.И., Попов Д.В. Ассоциация полиморфизма гена ACTN3 с физической деятельностью и гипертрофией скелетных мышц при силовой тренировке // Сб. науч. тр. СПбНИИФК – СПб., 2006. – С.206-211.
5. Зациорский В.М., Алешинский С.Ю., Якунин Н.А. Биомеханические основы выносливости. -М.: ФиС.-1982.-207с.
6. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. // М., Мир, 1984, 480 стр.
7. Хвостова С.А. // Новые технологии в ортопед. и травматол.: Матер. юбил. научн.-практ. конф., Якутск, 2002. С. 39.
8. Codd MB, Sugrue DD, Gersh BJ, Melton LJ 3rd. Epidemiology of idiopathic dilated and hypertrophic cardiomyopathy. A population-based study in Olmsted County, Minnesota. 1975-1984. *Circulation* 1989; 80: 564-72.
9. Jaaskelainen P, Miettinen R, Karkkainen P, Toivonen L, Laakso M, Kuusisto J. Genetics of hypertrophic cardiomyopathy in eastern Finland: few founder mutations with benign or intermediary phenotypes. *Ann Med*. 2004; 36(1): 23-32.
10. Matsuoka R., Yoshida M.C., Kanda N., Kimura M., Ozasa H., Takao A. Human cardiac myosin heavy-chain gene mapped within chromosomal region 14q11.2-q13. - *Cytogenet.Cell Genet.*, 1989, v. 51, p. 1040-1041.
11. Mathew C.C. The isolation of high molecular weight eucariotic DNA // *Methods in Molecular Biology* // Ed. Walker J.M.N. Y.: Human Press. 1984. V. 2. P. 31-34.
12. Qin H., Kemp J., Yip M.Y., Lamp-Po-Tang P.R.L., Hoh J.F.Y., Morris B.J. Localization of human cardiac beta-myosin heavy chain gene (MYH7) to chromosome 14q12 by in situ hybridization. - *Cytogenet.Cell Genet.*, 1990, v. 54, p. 74-76.

ГАПЛОТИПНЫЙ АНАЛИЗ ПРИ ДИСЛИПИДЕМИИ

Яхина И. И., Мулюкова Р. В., Горбунова В. Ю.

ФГБОУ ВО «БГПУ им.М. Акмуллы», г. Уфа

Дислипидемия на сегодняшний день является одним из наиболее распространенных заболеваний, которое может привести к ряду нарушений липидного обмена: ожирению, сахарному диабету (СД), сердечно-сосудистым заболеваниям (ССЗ). Ожирение по признанию Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) рассматривают как многофакторное заболевание, неинфекционную эпидемию настоящего времени. Исследована связь однонуклеотидных полиморфизмов: *rs2241766* гена адипонектина (*ADIPOQ*), *rs1801282* гена ядерного рецептора γ -2, активируемого пролифератором пероксисом (*PPARG*), *rs34911341* гена грелина (*GHRL*) которые ассоциируются с нарушением функционирования жировой ткани.

Ключевые слова: дислипидемия, *single-nucleotide polymorphism*, адипонектин, ген адипонектина (*ADIPOQ*), ген пролифератора пероксисом (*PPARG*), ген грелина (*GHRL*).

Введение

Дислипидемия характеризуется как результат взаимодействия генетической предрасположенности и факторов окружающей среды, а также нарушением метаболизма в организме, и относится к метаболическому синдрому (МС), являющейся социально значимой областью исследований для генетики и медицины. Характеризуется нарушением липидного обмена, развитием атеросклероза, представляющий собой уплотнение стенок артерий (сосудов) и сужение их просвета с нарушением кровоснабжения органов (Reiner, 2012).

Основными показателями липидного обмена являются общий холестерин (ОХС), липопротеины высокой плотности (ЛПВП), липопротеины низкой плотности (ЛПНП), липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП), триглицериды (ТГ), индекс атерогенности (ИА) (Reiner, 2012).

По данным ВОЗ ~ 30% жителей планеты страдают избыточным весом, из них 16,8% — женщины и 14,9% — мужчины. Численность людей, страдающих ожирением, прогрессивно увеличивается каждые 10 лет на 10%. По данным 2013 г. Россия находится на третьем месте по экстремальному развитию ожирения среди населения (Бурко, 2013).

Основной причиной ожирения является нарушения генетической регуляция энергетического баланса между потреблением и расходом энергии, который обуславливает поддержание стабильной массы тела и

составляет 5- 10 % влияния на развитие ожирения (Марри, 1993; Бурко, 2013).

Ведущую роль в причинах ожирения занимает адипоцитокнины (адипокины) – белки жировой ткани (ЖТ), экспрессия и секреция которых изменяется при патологии, т. е. при ожирении и/или абдоминальном типе распределения ЖТ (Танянский, 2008).

Липиды, попадая в организм человека, подвергаются разложению в пищеварительном тракте, в результате чего образуются продукты, которые поступают в жидкую среду организма (кровь, лимфа) и переносятся в печень для уничтожения либо отлагаются в ЖТ (Николаев, 2014).

В данной работе были изучены полиморфизмы генов *ADIPOQ* и *PPARG*, *GHRL*, локализованные на 3-й хромосоме. Они участвуют в регуляции метаболических, катаболических процессов, липидного, углеводного обмена, в окислении жирных кислот в организме, тем самым снижая их уровень, повышают чувствительность к инсулину, предотвращая инсулинорезистентность, улучшают гликемический путь. Было исследовано сцепление этих генов (Кравченко, 2011).

Адипонектин – коллагеноподобный белок, снижающий содержание жирных кислот и их поступление в печень, стимулирующий β -окисление жирных кислот путем активации протеинкиназы, способствуя сокращению продукции глюкозы печенью, также синтеза ТГ; участвует в регуляции кровяного давления, препятствуя отложению жира на стенках кровеносных сосудов; предотвращает возникновение воспалительных процессов; смягчает повреждения при ишемии и реперфузии (возобновление тока крови) сердечной мышцы; предотвращает развитие деменции (слабоумия); поддерживает энергетический гомеостаз; ингибирует атеросклеротические процессы. Адипонектин синтезируется в белой ЖТ, состоит из 244 аминокислот и кодируется геном *ADIPOQ*, который локализован в 3q27 (Катрухи, 2009).

Адипонектин в большом количестве содержится в циркулярной плазме организма (5-20 мкг/мл) в состоянии различных олигомерных комплексов. Концентрация адипонектина в крови у здоровых мужчин составляет 6 мкг/мл, что в 1,5 – 2 раза ниже, чем у женщин (9-12 мкг/мл). Уровень белка значительно снижается при таких заболеваниях, как ожирение, инсулинорезистентность, сахарный диабет 2-го типа, гипергликемии и ССЗ (инфаркт миокарда, ишемия, острый коронарный синдром), что говорит о возможности использования данного белка в качестве биомаркера при диагностике перечисленных заболеваний (Чубриева, 2008).

SNP +45T→G (*rs2241766*) – Gln15Gln локализован в экзоне 2, ассоциирован с метаболическим синдромом, сахарным диабетом 2-го типа. По литературным данным можно указать аллели T* и G*. Аллель T* является протективным, т. е. отвечает за правильное, равномерное распределение жировой ткани. G* – мутантный аллель, который имеет негативный эффект,

вызывая понижение адипонектина в крови. Характеристика аллелей и генотипов представлены в табл.1 (Jochmanová, 2013).

Таблица 1

Характеристика аллелей и генотипов

Аллель	Генотип	Характеристика	Ссылки
G	G/G	Понижение уровня адипонектина, увеличение ИМТ, низкая чувствительность к инсулину (ИР), повышение уровня липидов в кровеносных сосудах, гипергликемия, риск ожирения	Jochmanová, 2013
T	T/T	Нормальное распределение ЖТ в организме	
–	T/G	Избыточная масса тела, предрасположенность к ожирению	

Ядерный рецептор активируемый пролифератором пероксисом (*PPARG*) – транскрипционный фактор, регулирующий гены, связанные с аккумуляцией жира (синтеза триглицеридов), дифференцировкой адипоцитов и миобластов, активностью остеобластов (Semple *et al.*, 2006). Ген *PPARG* локализуется на коротком плече 3-й хромосомы (3p25). Экспрессируется в ЖТ в 1,5 раза больше, чем в мышечной, а также в β -клетках поджелудочной железы (Николаев, 2014).

Транскрипционные факторы регулируют метаболизм жиров и углеводов, холестерина и желчных кислот, процессы воспаления, регенерации и дифференциацию/пролиферацию клеток печени (Li, 2011). Все изоформы PPAR (*PPAR α* , *PPAR β/δ* , *PPAR γ*) представлены в печени (Расин, 2013).

SNP C34G (rs1801282) – Pro12Ala, находящийся в 8 экзоне гена *PPARG*, ассоциирован со снижением его транскрипционной активности, развитием метаболического синдрома и сахарного диабета второго типа (De Carte *et al.*, 2009).

Фактором риска ожирения является носительство непротективного аллеля Ala12. Своевременное выявление носительства мутантного аллеля позволяет рекомендовать изменения в диете, усиление физической активности и снижение массы тела, что позволяет практически полностью снизить риск развития диабета и ожирения. Характеристика аллелей и генотипов представлена в табл. 2 (Николаев, 2014).

Таблица 2

Характеристика генотипов и аллелей

Аллель	Генотип	Характеристика	Ссылки
Pro	Pro/Pro	Нормальное функционирование <i>PPARG</i> в ЖТ	De Carte <i>et al.</i> , 2009
Ala	Ala/Ala	подавление липолиза в адипоцитах, что снижает уровень циркулирующих свободных ЖК,	

		увеличивает утилизацию мышцами глюкозы; риск развития ожирения; увеличение ИМТ	
–	Pro/Ala		

Грелин – системный гормон голода, увеличивающий потребление пищи через активацию орексигенных (повышающих аппетит) путей в дугообразном ядре гипоталамуса. Он обладает широким спектром действия, самые основные и относящиеся к данной теме это: участвует в реализации иммунитета, адаптации, пищевого поведения (повышении аппетита), стабилизации энергетического баланса благодаря стимуляции потребления пищи, снижении утилизации жира, активируя нейроны гипоталамуса и аркуатных ядер, что дает возможность регуляции метаболизма липидов и глюкозы, координации моторики желудка и двенадцатиперстной кишки. Действие грелина характеризуется адекватным реагированием организма на потребление пищи (Корнеева, 2014).

Грелин экспрессируется эндокринными клетками слизистой оболочки желудка, тонкого кишечника, клетками островков Лангерганса, гипофизом, гипоталамусом, плацентой, поджелудочной железы, легкими, яичками, почками, опухолевыми клетками (Романцова, 2014).

GHRL – ген, кодирующий орексигенный гормон грелин (гормон голода), состоящий из 4-х экзонов и 3 интронов длиной 5199 п. о. Ген локализуется на коротком плече 3-й хромосомы – 3p25-26 (Polińska, 2011). Уровень грелина регулируется питанием и метаболическими факторами: он увеличивается при ограничении питания (недостаточное питание, анорексия), уменьшается при приеме пищи и переедании. Уровень липидов также влияет на концентрацию грелина в крови. При приеме в пищу большого количества жиров наблюдается снижение уровня гормона (Кириенкова, 2012).

SNP Arg51Gln локализован в экзоне 3, в конце последнего кодона ацилированного грелина. Замена аргинина на глутамин в 51-м положении ведет к нарушению работы эндопротеаз, т. е. этот фермент теряет сайт связывания с концами карбоксильных аминокислот, для их протеолитического расщепления, чтобы синтезировать зрелый грелин из прогрелина. В итоге идет производство больше аномальной (неактивной) молекулы грелина (деацилированная форма), что предвещает нарушение функции белка грелина в организме. Непротективный аллель * Gln характеризуется высоким уровнем ИМТ, ОХС, ТГ, низкой концентрацией грелина в крови, встречается у лиц имеющих ожирение. Характеристика аллелей и генотипов представлены в табл. 3 (Krzyżanowska-Świniarska, 2005).

Таблица 3

Характеристика генотипов и аллелей

Аллель	Генотип	Характеристика	Ссылки
*Arg (*C)	Arg/Arg (C/C)	Уровень грелина находится в пределах нормы (0,5-0,7 нг/мл) и выполняет присущие ему функции.	Krzyżano

		Повышается перед приемом пищи, а после сразу приходит к пределам нормы.	wska- Świniarsk a, 2005
*Gln (*T)	Gln/Gln (T/T)	Уровень грелина понижен (ниже 0,5 нг/мл), приводит к синтезу неактивной формы грелина, неспособный связываться со своим рецептором. Способствует высокому уровню ОХС, ТГ в течение долгого времени, является фактором риска СД 2-го типа, ожирения (2,3-й степени), гипертонии, высокого ИМТ (>30).	
–	Arg/Gln С/Т	Уровень грелина ниже, чем у носителей с генотипом Arg/Arg, выше, чем у Gln/Gln. Способствует высокому уровню ИМТ – 23 – 29,9 (1-я степень ожирения)	

Целью исследования является изучение сцепления между генами *ADIPOQ* (*rs2241766*), *PPARG* (*rs1801282*), *GHRL* (*rs34911341*) для использования в профилактике ожирения.

Были поставлены следующие **задачи**:

1. Провести ДНК-типирование массивов с разной концентрацией ОХС и ТГ в крови.
2. Провести ДНК-типирование семей, склонных к ожирению.
3. Разработать алгоритм анализа причин ожирения.
4. Провести анализ наследования генов в семьях (гаплотипный анализ).

Материалы исследования

В работе использованы образцы ДНК 190 детей в возрасте 14-17 лет, проживающих на территории Республики Башкортостан (г. Белорецк). Образцы ДНК были предоставлены лабораторией Центра молекулярно-генетических исследований Башкирского Государственного Педагогического университета им. М. Акмуллы, где и были проведены исследования.

Сравнение групп проводилось по показателям ОХС и ТГ с высоким и низким уровнем в сыворотке крови, на основе рекомендаций Всероссийского научного общества Кардиологов (ВНОК) 2009 г. (табл. 4).

Таблица 4

Градации показателей общего холестерина и триглицеридов в сыворотке крови детей (по рекомендациям ВНОК 2009г.)

Показатель	Концентрация (уровень)		
	низкий уровень, ммоль/л, (n)	высокий уровень, ммоль/л, (n)	уровень в пределах физиологической нормы, ммоль/л, (n)
ОХС	до 3,8	больше 5,2	3,8-5,2

ТГ	до 0,5	больше 1,7	0,5-1,7
----	--------	------------	---------

Методы исследования

В работе использовались стандартные методы исследования:

1. Молекулярно-генетические методы: ДНК выделяли методом фенольно-хлороформной экстракции по Mathew (1984), полимеразную цепную реакцию синтеза ДНК проводили по Mullis (1987), электрофорез в 7% полиакриламидном геле по Маниатису (1984).

2. Статистическая обработка данных: закон Харди-Вайнберга, метод χ^2 , метод 2×2 , гаплотипный анализ.

Результаты и обсуждение

Продукция адипонектина регулируется транскрипционными, трансляционными и посттрансляционными механизмами. Некоторые факторы способны модулировать экспрессию гена адипонектина. Наиболее заметный из них — рецептор, активируемый пролифераторами пероксисом (от английского peroxisome proliferator-activated receptors, PPAR). Активация этого ядерного рецептора противодиабетическими препаратами класса тиазолидиндионов стимулирует экспрессию и секрецию адипонектина в жировой ткани. Некоторые другие транскрипционные факторы, такие как белок (Парфенова, 2013). Одной из функций гена *ADIPOQ* является стимуляция окисления жирных кислот, снижение синтеза триглицеридов.

Эти функции контролируются геном *PPARG* и мутации в нем снижают окисление жиров, т. е. снижает функционирование адипонектина. При помощи гаплотипного анализа удалось выснить, что полиморфные локусы этих генов сцеплены, но показатель сцепления $D=0,308193$ (показатель D должен быть больше 0,3). Можно предположить, что сцепление незначительно и есть возможность кроссинговера между генами.

Показатель сцепления между *GHRL* и *PPARG* ($D=0,109480$) указывает на то, что между ними есть кроссинговер. Гены *GHRL* и *ADIPOQ* сцеплены и необходимо провести анализ гаплотипов, т. к. $D=0,355186$ (табл. 6, 7).

При исследовании частот генотипов и аллелей у лиц с показателями ОХС и ТГ не были получены достоверные результаты. Результаты указаны в табл. 5.

Таблица 5

Анализ распределения частот генотипов и аллелей генов *GHRL* (rs34911341) и *ADIPOQ* (rs2241766), *PPARG* (rs 1801282)

Генотип/ аллель	Группы		p (χ^2)
	низкий уровень ОХС	высокий уровень ОХС (более 5,2)	

	(менее 3,8 ммоль/л)		ммоль/л)		
	n	p±x	n	p±x	
<i>GHRL*C/*C</i>	33	0,52±0,06	12	0,41±0,09	0,4499 (0,5725)
<i>GHRL*C/*T</i>	29	0,46±0,06	17	0,59±0,09	0,3702 (0,8061)
<i>GHRL*T/*T</i>	1	0,02±0,02	0	0	1,0005 (0,0005)
<i>GHRL*C</i>	95	0,75±0,04	41	0,71±0,06	0,6207 (0,2454)
<i>GHRL*T</i>	31	0,25±0,04	17	0,29±0,06	
<i>ADIPOQ*T/*T</i>	62	0,99±0,01	28	0,97±0,03	1,0005 (0,0005)
<i>ADIPOQ*T/*G</i>	1	0,02±0,02	1	0,03±0,03	1,0005 (0,0005)
<i>ADIPOQ*G/*G</i>	0	0	0	0	1,0005 (0,0005)
<i>ADIPOQ*T</i>	125	0,99±0,01	57	0,98±0,02	1,0005 (0,0005)
<i>ADIPOQ*G</i>	1	0,01±0,01	1	0,02±0,02	
<i>PPARG*Pro/Pro</i>	45	0,71±0,06	23	0,79±0,08	0,5862 (0,2968)
<i>PPARG*Pro/Ala</i>	17	0,27±0,06	6	0,21±0,08	0,6976 (0,1515)
<i>PPARG*Ala/Ala</i>	1	0,02±0,02	0	0	1,0005(0,0005)
<i>PPARG*Pro</i>	107	0,85±0,03	52	0,90±0,04	0,5228 (0,40910)
<i>PPARG*Ala</i>	19	0,15±0,03	6	0,10±0,04	
	низкий уровень ТГ (менее 0,5 ммоль/л)		высокий уровень ТГ (более 1,7 ммоль/л)		
	n	p±x	n	p±x	
<i>GHRL*C/*C</i>	9	0,56±0,12	9	0,45±0,11	0,7375 (0,1129)
<i>GHRL*C/*T</i>	7	0,44±0,12	11	0,55±0,11	0,7375 (0,1129)
<i>GHRL*T/*T</i>	0	0	0	0	1,0005 (0,0005)
<i>GHRL*C</i>	25	0,78±0,07	29	0,73±0,07	0,7846 (0,0755)
<i>GHRL*T</i>	7	0,22±0,07	11	0,28±0,07	
<i>ADIPOQ*T/*T</i>	15	0,94±0,06	19	0,95±0,05	1,0005 (0,0005)
<i>ADIPOQ*T/*G</i>	1	0,06±0,06	1	0,05±0,05	1,0005 (0,0005)
<i>ADIPOQ*G/*G</i>	0	0	0	0	1,0005 (0,0005)
<i>ADIPOQ*T</i>	31	0,97±0,03	39	0,98±0,02	1,0005 (0,0005)
<i>ADIPOQ*G</i>	1	0,03±0,03	1	0,03±0,02	

<i>PPARG*Pro/Pro</i>	10	0,63±0,12	15	0,75±0,10	0,6563 (0,1984)
<i>PPARG*Pro/Ala</i>	6	0,38±0,12	5	0,25±0,10	0,6563 (0,1984)
<i>PPARG*Ala/Ala</i>	0	0	0	0	1,0005 (0,0005)
<i>PPARG*Pro</i>	26	0,81±0,07	35	0,88±0,05	0,6871 (0,1627)
<i>PPARG*Ala</i>	6	0,19±0,07	5	0,13±0,05	

Анализ гаплотипов был произведен при помощи специальных программ (2LD, Norton Commander, EN). Результаты представлены в табл. 6, 7.

Таблица 6

Анализ гаплотипов при низком и высоком уровнях ОХС в крови

Гаплотипы	Группа с низким значением ОХС (менее 3,8 ммоль/л)		Группа с высоким значением ОХС (более 5,2 ммоль/л)		p (χ^2)
	n	p	n	p	
T/C	81	0,427262	78	0,412461	0,8701 (0,0275)
T/T	61	0,31877	62	0,328918	0,9723 (0,0017)
G/C	38	0,199723	36	0,190987	0,9179 (0,0113)
G/T	10	0,054246	13	0,067634	0,6575 (0,1970)

Таблица 7

Анализ гаплотипов при низких и высоких уровнях ТГ в крови

Гаплотипы	Группа с низким значением ТГ (менее 3,8 ммоль/л)		Группа с высоким значением ТГ (более 5,2 ммоль/л)		p (χ^2)
	n	p	n	p	
T/C	89	0,470459	86	0,451719	0,8003 (0,0648)
T/T	50	0,263916	54	0,285781	0,7540 (0,0989)
G/C	32	0,170166	31	0,160781	0,9824 (0,0010)
G/T	18	0,095459	19	0,101719	1,0005 (0,0005)

При анализе гаплотипов не выявлены достоверные различия.

Разработан алгоритм скрининга людей и рассмотрена возможность внедрения этого метода в профилактику ожирения населения.

ЛИТЕРАТУРА:

1. **Бурко, И.** Проблемы лишнего веса: развитие ожирения и подходы к его лечению// И. Бурко// научно-практический журнал «Наука и инновации». – 2013. - № 10 (128). – с. 4-7.
2. **Катрухи, И. А.** Исследование адипонектина человека с помощью моноклональных антител [Текст]: дипломная работа студента 5-го курса МГУ им. М. В. Ломоносова: защищена 2009 г./ И. А. Катрухи. - Москва, 2009. – 63 с.
3. **Кириенкова, Е. В.** Метаболические и сердечно-сосудистые эффекты грелина/ Кириенкова Е. В., Литвинова Л. С., Селедцов В. И., Затолокин П. А., Аксенова Н. Н., Селедцова И. А.// Ожирение и метаболизм 1'2012.
4. **Корнеева, Е. В.** Роль грелина и лептина в регуляции массы тела у пациентов с метаболическим синдромом/ Е. В. Корнеева// вестник новых медицинских технологий – 2014 – Т.21, №1 – с.36.
5. **Кравченко, Н. А.** Роль PPARS и его изоформ при метаболических нарушениях, связанных с инсулинорезистентностью и диабетом// Н. А. Кравченко, Н. В. Ярмыш/ Кравченко, Н. А. Роль PPARS и его изоформ при метаболических нарушениях, связанных с инсулинорезистентностью и диабетом// Н. А. Кравченко, Н. В. Ярмыш/ Цитология и генетика, 2011. № 3/ ISSN 0564–3783.
6. **Маниатис, Т.** Молекулярное клонирование (Методы генетической инженерии)/ Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук/- М.: Мир, 1984. С. 220-228.
7. **Марри, Р.** Биохимия человека/ Р. Марри, Д. Греннер, П. Мейес, В. Родуэлл/ Т. 1 пер. с англ: - М.: Мир, 1993. -384 с.
8. **Николаев, И. В.** Молекулярно-генетический анализ взаимодействия аллелей генов липидного обмена (*LEP, LEPR, LPL, PPARG*) при дислипидемии// И. В. Николаев, Р. В. Мулюкова, Л. Р. Каюмова, Е. В. Воробьева, В. Ю. Горбунова// БГПУ им. М. Акмуллы, Уфа, Россия. – 2014. – УДК 578.8.57.017.73.
9. **Романцова, Т. И.** Лептин и грелин: антагонизм и взаимодействие регуляции энергетического обмена// Т. И. Романцова, Г. Е. Волкова// ожирение и метаболизм 2'2005.
10. **Танянский, Д. А.** Связь уровня адипонектина с обменом липидов и углеводов у женщин: роль массы тела// Д. А. Танянский, Э. М. Фирова, Л. В. Шатилина, А. Д. Денисенко// вестник Санкт-Петербургского университета. – 2008. – № 4(1). – с. 53-61.
11. **Чубриева, С. Ю.** Жировая ткань как эндокринный регулятор (Обзор литературы)// С. Ю. Чубриева, Н. В. Глухов, А. М. Зайчик// вестник Санкт-Петербургского университета. – 2008. – № 1 (11). – с. 32-43.
12. **Jochmanova, I.** T45G and G276T Adiponectin Gene Polymorphisms in Primary Aldosteronism and Healthy Controls in an East Slovak Population// I. Jochmanova, V. Habalova, H. Wagnerova, A. Galovicova, I. Lazurova// Physiological Research. – 2013. – № 62. – p. 413- 420.

13. **Li Y.**, The role of leptin receptor gene polymorphism in determining the susceptibility and prognosis of NSCLC in Chinese patients // Geng J., Wang Y. et al. *cancer Res Clin Oncol*. 2011. Nov.30.
14. **Mathew C.C.** The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA // C. C. Mathew// *Methods in molecular biology* N.Y. 1984 V. 2. P. 31-34.
15. Mullis K.B. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia // K. B. Mullis, R. K. Saiki, S. Scharf *et al.*// *Science*. – 1987. – V. 230. – N 4732. – p. 487-491.
16. **Krzyżanowska-Świniarska B.** Gen preprogreliny i receptor greliny a zespół metaboliczny// Barbara Krzyżanowska-Świniarska, Anna Kempa, Maciej Robaczyk/ *Klinika Endokrynologii, Nadciśnienia Tętniczego i Chorób Przemiany Materii Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie/ Endokrynologia, Otyłość i Zaburzenia Przemiany Materii* 2005, tom 1, nr 2, s. 18–23.
17. **Polińska, B.** The role of ghrelin in the organism/ B. Polińska, J. Matowicka-Karna, H. Kemonia// *Postepy Hig Med Dosw (online)*, 2011; 65: 1-7 www.phmd.pl e-ISSN 1732-2693.
18. **Semple R.K.**, Chatterjee V.K., O'Rahilly S. PPAR gamma and human metabolic disease // *J Clin Invest*. 2006. V.116 №3. P. 581-589.
19. **Reiner, Z.** Рекомендации европейского общества кардиологов и европейского общества атеросклероза по лечению дислипидемий [Электронный ресурс]/ Z. Reiner, A. L. Catapano, G. De Backer, I. Graham, Marja-Riitta Taskinen, O. Wiklund, S. Agewall, E. Alegria, M. J. Chapman, P. Durrington, S. Erdine, J. Halcox, R. Hobbs, J. Kjekshus, P. P. Filardi, G. Riccardi, R. F. Storey, D. Wood. – Режим доступа: http://www.rpcardio.ru/upload/archive/pdf_articles/2012/RFK_2012-1-recomend.pdf.

«День ДНК - 2016»

труды
научной конференции
студентов, аспирантов и молодых ученых

Лиц. на издат. деят. Б848421 от 03.11.2000 г. Подписано в печать 15.06.2016.

Формат 60X84/16. Компьютерный набор. Гарнитура Times New Roman.

Отпечатано на ризографе. Усл. печ. л. – 4,4. Уч.-изд. л. – 4,2.

Тираж 100 экз. Заказ №

ИПК БГПУ 450000, г. Уфа, ул. Октябрьской революции, 3а