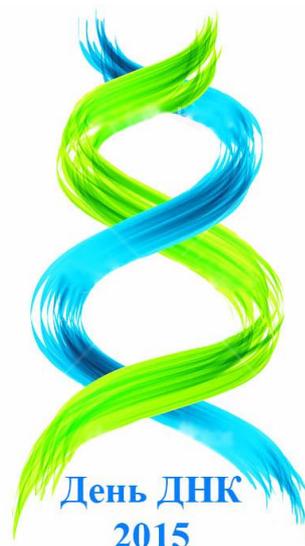

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН
ФГБОУ ВПО «БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМ. М. АКМУЛЛЫ»
КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ



БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
им. М. Акмуллы



«День ДНК - 2015»

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

Уфа
22-24 апреля 2015 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-2015», 22-24 апреля. – Уфа: Изд-во БГПУ, 2015. – 65 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, 2015

СОДЕРЖАНИЕ

Валиуллина Р.Р., Абрамов С.Н. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДЕТЕРМИНАЦИЯ ФОРМИРОВАНИЯ ОКРАСКИ ВЕНЧИКА <i>RETUNIA HYBRIDA</i>	5
Губаева Ю.Г., Галикеева Г.Ф., Горбунова В.Ю. АНАЛИЗ АЛЛЕЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГЕНОВ <i>Rb</i> И <i>TP53</i> В НОРМЕ И ПРИ ОНКОПАТОЛОГИИ	7
Ю.Д.Давыдова, О.В. Гумерова АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ СЕРТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ТРЕВОЖНОСТИ У СТУДЕНТОВ	10
Егозарьян Н.С., Жарикова Н.В. ИССЛЕДОВАНИЕ ШТАММА-ДЕСТРУКТОРА ХЛОРФЕНОКСИУКСУСНЫХ КИСЛОТ ВИДА <i>SERRATIA MARCESCENS</i>	15
<i>Ерыкалина И. А.</i> ПОЛИМОРФИЗМ <i>rs3135388</i> ГЕНА <i>HLA-DRB1*1501</i>, КАК ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ФАКТОР РИСКА РАЗВИТИЯ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА В ПОПУЛЯЦИИ РУССКИХ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН	17
Жгулева Е.А. Мавлютова Д.Ш., Гайнуллина К.П. АНАЛИЗ ГИБРИДОВ КУКУРУЗЫ (<i>ZEА MAYS L.</i>) МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОФОРЕЗА ЗЕИНА	19
Закирова Э.Г., Вахитова Ю.В. ОЦЕНКА АНТИРАДИКАЛЬНЫХ СВОЙСТВ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ИЗОБОРНИЛФЕНОЛОВ	22
Иванова Т.В., Насибуллин Т.Р., Мустафина О.Е. АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНОГО МАРКЕРА <i>rs6511720</i> ГЕНА <i>LDLR</i> С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ИНФАРКТА МИОКАРДА	24
Измайлова К.А., Галикеева Г.Ф. АНАЛИЗ АЛЛЕЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГЕНОВ <i>XPDI</i> И <i>XPGI</i> В НОРМЕ И ПРИ ОНКОПАТОЛОГИИ	27

Ишбулатова Н.И., Васильева Э.М., Николаев И.В., Горбунова В.Ю	29
ИССЛЕДОВАНИЕ АЛЛЕЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВОГО СЕМЕЙСТВА ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	
Калимуллина Ю.А., Васильева Э.М.	37
ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ АЛЛЕЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГЕНОВ ЦИТОХРОМОВ P450 2C (CYP2C9 И CYP2C19) У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ	
Камалов А. М., Жарикова Н. В.	41
ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БАКТЕРИИ РОДА GORDONIA	
Мазай А.К. Каримов Д.Д., Эрдман В.В., Насибуллин Т.Р., Мустафина О.Е.	47
ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ Alu- ИНСЕРЦИОННЫХ ЛОКУСОВ В ГЕНАХ EVI5, PKHD1L1, STK38L С ДОЛГОЛЕТИЕМ.	
Садыкова Л.Р.	49
АНАЛИЗ ВКЛАДА АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОВ СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ НЕЙРОМЕДИАТОРНОЙ СИСТЕМЫ В ФОРМИРОВАНИЕ НЕВЕРБАЛЬНОГО ИНТЕЛЛЕКТА	
Шарафутдинова Д.Р., Киняшева К.О., Гареева А.Э., Хуснутдинова Э. К.	53
ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ПОЛИМОРФНОГО МАРКЕРА rs 274622 ГЕНА GRM3 В РАЗВИТИИ ШИЗОФРЕНИИ У РАЗЛИЧНЫХ ЭТНИЧЕСКИХ ГРУПП ИЗ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН	
Юсупова Э.И., Воробьева Е.В.	55
ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ПОЛИМОРФНОГО ВАРИАНТА ГЕНА МИОЗИНА ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ	
Яхина И. И., Мулюкова Р. В., Горбунова В.Ю.	56
ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ГЕНА АДИПОНЕКТИНА (ADIPOQ) ПРИ ДИСЛИПИДЕМИИ	

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДЕТЕРМИНАЦИЯ ФОРМИРОВАНИЯ ОКРАСКИ ВЕНЧИКА *PETUNIA HYBRIDA*

Валиуллина Р.Р., Абрамов С.Н.
ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Работы по изучению определения окраски венчика у растений начались еще несколько столетий назад. В ходе исследований растительных пигментов были сделаны важнейшие открытия современной биологии, такие как – законы Менделя, мобильные генетические элементы, явление РНК – интерференции. Было установлено, что за определение той или иной окраски цветков и плодов отвечает особая группа растительных пигментов, называемая флавоноиды. На сегодняшний день имеются многочисленные данные о химической структуре флавоноидов и их производных, биосинтезе и его регуляции. Одной из групп вторичных метаболитов флавоноидов являются антоцианы.

Название антоцианов происходит от двух греческих слов *anthos* (цветок) и *kyanos* (синий). Антоцианы — водорастворимые пигменты вакуолей растений, которые могут быть красных, фиолетовых или синих цветов и их оттенков в зависимости от кислотности. Молекулы антоцианов относятся к группе флавоноидов, принадлежащих в свою очередь к классу гликозидов.

Биологическая роль данных соединений в жизни растений изучена еще недостаточно. Имеются данные, что флавоноиды и их производные – антоцианы, принимают участие в окислительно-восстановительных процессах растений, выработке иммунитета, в защите растений от неблагоприятных воздействий ультрафиолетовых лучей и низких температур.

Также эти соединения играют важную роль в процессах размножения высших растений, а именно обуславливают огромное разнообразие окрасок цветков, что привлекает насекомых и тем самым способствуют опылению, и плодов, что способствует их расселению.

В случае декоративных растений основной интерес представляет то, что окраска венчика цветка при семенном размножении не сохраняется в ряду поколений, в частности у *Petunia hybrida*. Поэтому растения, полученные в результате традиционной селекции и методами генетической инженерии, размножаются преимущественно вегетативным путем, что может явиться причиной потери уникальных генотипов.

В связи с вышеизложенным, для получения генетически стабильных сортов необходимо детальное изучение молекулярно-биологических и молекулярно-генетических аспектов синтеза флавоноидных соединений у декоративных растений.

Цель исследования состояла в установлении особенностей молекулярно-биологической и генетической регуляции биосинтеза антоциановых пигментов в венчиках декоративных растений.

Объектами исследования послужили венчики *Petunia hybrida*. В исследовании использовали тонкослойную хроматографию (ТСХ), колоночную хроматографию и метод спектрофотометрии.

В ходе исследования разработана оптимальная методика выделения флавоноидных соединений и антоциановых пигментов из растительного сырья а также методика разделения различных групп флавоноидных и антоциановых соединений.

Был проведен качественный и количественный анализ исследуемых соединений и изучили механизмы превращения предшественников в антоцианы с последующим определением групп ключевых ферментов для данных биосинтетических путей.

Полученные данные позволили анализировать генетическую детерминацию синтеза ключевых ферментов метаболизма антоцианов.

Результаты исследований позволяют проводить манипуляции с окраской декоративных растений на молекулярно-генетическом уровне, создавая сорта с нехарактерной окраской, которая будет передаваться из поколения в поколение.

АНАЛИЗ АЛЛЕЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГЕНОВ *Rb* И *TP53* В НОРМЕ И ПРИ ОНКОПАТОЛОГИИ

Ю.Г. Губаева, Г.Ф.Галикеева, В.Ю.Горбунова

ФГБОУ ВПО «БГПУ им.М. Акмуллы»

Ключевые слова: клеточный цикл, канцерогенез, апоптоз, ген-онкосупрессор, полиморфизм

Краткая аннотация. В исследовании изучена роль генов *Rb* и *tp53* в формировании риска злокачественной трансформации клетки.

Введение. Основой канцерогенеза, независимо от локализации опухоли, является злокачественная трансформация клетки в результате нарушения клеточного цикла и угнетения апоптоза [1].

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 [2].

Таким образом, в выявлении механизмов злокачественной трансформации клеток наиболее актуальным является изучение генов клеточного цикла и наиболее значимыми представителями являются гены *Rb* и *tp53* ввиду широкого спектра выполняемых функций в процессах поддержания целостности генома и генетической стабильности клетки.

Ген *tp53* у человека локализован на коротком плече 17 хромосомы - 17p13, имеет размеры 20 кб, и состоит из 11 экзонов [4]. *TP53* — транскрипционный фактор, ядерный белок, кодируемый одноименным геном — супрессором опухолевого роста, регулирует многие клеточные функции, включая митотический цикл, дифференцировку клеток и их гибель по типу апоптоза[7]. В клеточном цикле активированный ген *tp53* обеспечивает остановку в сверхочной точке G1/S для репарации поврежденной ДНК и индукции апоптоза.

Ген *Rb* расположен в проксимальном отделе длинного плеча хромосомы 13q14.1, и имеет протяженность в 180 т.п.н. геномной ДНК [1]. Он содержит 27 экзонов, длина интронов варьирует от 80 п.н. в интроне 15 до 60000 в 17 интроне[5]. В норме он кодирует ядерный белок, фосфорилирование которого приводит к быстрому переходу клеток из фазы G1 в S-фазу и началу нового репликативного цикла. Инактивация или отсутствие *Rb*-белка могут быть ассоциированы с неконтролируемым размножением опухолевых клеток [1].

Цель настоящего исследования заключается в анализе аллельных состояний генов *Rb* и *tp53* в норме и при онкопатологии.

Материалы и методы. В работе использованы образцы ДНК 320 человек проживающих в Республике Башкортостан. Из них 140 здоровых индивидов без отягощенного онкологического анамнеза и 180 онкологических больных, находившихся на стационарном лечении в ГБУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер» МЗ Республики Башкортостан.

Для выделения ДНК использовали метод фенольно-хлороформной экстракции ДНК из периферической крови [6]. Генотипирование проводили с использованием метода ПЦР-ПДФ 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 обсуждение. 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 исследованной выборке онкобольных по гену *Rb* (*rs137853294*, C/G): распределения частот генотипов и аллелей соответствуют закону Харди-Вайнберга; наблюдаемые распределения частот генотипов также соответствуют теоретически ожидаемому ($\chi^2 = 3,64$). В то время как, в выборке здоровых по гену *Rb* (*rs137853294*, C/G) распределения частот генотипов и аллелей не соответствуют закону Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 145,6$).

В исследованной выборке онкобольных по гену *Tp53* *rs1042522* (G/C): распределения частот генотипов и аллелей не соответствуют закону Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 10,7$).

В результате попарного сравнения частот генотипов и аллелей по полиморфному локусу *rs137853294*(C/G) гена *Rb* (табл.1) выявлено достоверное повышение частоты гетерозиготного генотипа *CG* в группе здоровых ($p=0,0005$, $\chi^2=39,81$). В группе онкобольных выявлен гомозиготный генотип *GG* ($\chi^2=26,34$).

Таблица 1

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта гена *Rb* (*rs137853294*(C/G)) у здоровых индивидов и в группе с онкопатологией

Ген	Полиморфный вариант	Генотип/ аллель	Группа здоровых индивидов		Онкобольные		p (χ^2)
			n	$p_i \pm s_p$	n	$p_i \pm s_p$	
<i>Rb</i>	<i>rs137853294</i> (C/G)	<i>CC</i>	0	0	14	0,08±0,01	0,0057 (7,96)
		<i>CG</i>	105	0,93±0,02	100	0,58±0,03	0,0005 (39,81)
		<i>GG</i>	8	0,07±0,02	59	0,34±0,03	0,0005 (26,34)
		*C	105	0,46±0,02	128	0,37±0,02	0,0306 (4,69)
		*G	121	0,54±0,02	218	0,63±0,02	0,0306 (4,69)

Генетический полиморфизм *rs137853294*(C/G) 20 экзона гена *Rb* приводит к замене аргинина на триптофан в положении 661. Показано, что форма с

аргинином эффективнее запускает запрограммированную клеточную смерть и обладает высокой способностью к взаимодействию и активации транскрипции генов-мишеней.

Таким образом, инактивация Rb ослабляет работу сверхочной точки G1, не влияя на G2, и не блокируя p53. Одновременная модификация белков p53 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. Жимулев И. Ф. Общая и молекулярная генетика. Н: «Сибирское университетское издательство», 2003. 408-410с.
2. Клаг У. , М. Каммингс. Контроль клеточного цикла//«Основы генетики» - М: Техносфера, 2009.-С.58-59.
3. Копнин Б.П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза. Биохимия, 2000, 65, 5-33.
4. Isobe M., Emanuel B., Givol D., Oren M., Croce C. Localization of gene for human p53 tumour antigen to band 17p13 // Nature. 1986. V.320. P.84-85.
5. Gill R.L.; Hamel P.A.; Jiang Z.; Zacksenhaus E.; Gallie B.L.; Phillips R.A.: Characterization of the human RB1 promoter and of elements involved in transcriptional regulation.// Cell Growth Differ. 1994. V. 5. P. 467-474.
6. 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.
7. Vogelstein B., Kinzler K.W. // Cell.— 1992.— Vol.70.— P. 523—526.

АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ СЕРТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ТРЕВОЖНОСТИ У СТУДЕНТОВ

Ю.Д.Давыдова, О.В. Гумерова
ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Ключевые слова: триптофангидроксилаза, полиморфизм, генотип, тревожность, студенты.

Краткая аннотация. Проведена оценка роли межгенных взаимодействий полиморфных вариантов генов, продукты которых отвечают за биосинтез серотонина (*A218C* гена *TPH1* и *G-703T* гена *TPH2*), перенос (*5-HTTLPR* гена *SLC6A4*), рецепцию (*G68C* гена *5HTR2C*) и деградацию (*EcoRV* и *Fnu4HI* гена *MAO-A*). Обнаружены статистически значимые трехфакторные модели взаимодействия ДНК-локусов, ассоциированные с различными показателями тревожности.

Введение. Важнейшей составляющей успешной учебной деятельности студента является психологическая адаптация к стрессовым ситуациям. Тревожность - одно из центральных понятий в психологии и одна из существенных черт, определяющих как эмоциональную устойчивость индивида, так и мотивацию, и нацеленность на успех [1].

Различают ситуативную и личностную тревожность. Ситуативная тревожность определяет, как человек чувствует себя в данный момент времени, то есть эта характеристика используется для диагностики актуального состояния, а личностная тревожность выражает, как субъект чувствует себя обычно, то есть так диагностируется тревожность как свойство личности [2].

Исследование молекулярно-генетических маркеров психоэмоциональных характеристик человека, в том числе и тревожности, имеет большое значение, особенно в 21 веке. Известно, что серотонинергическая система вносит значительный вклад в формирование различных психологических состояний. К числу ключевых нейромедиаторов данной системы относится серотонин. Ключевым ферментом биосинтеза серотонина является триптофангидроксилаза, которая катализирует гидроксилирование 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 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].

К сожалению, большинство работ по выявлению связи полиморфных вариантов с определенными психологическими характеристиками проводится на людях с различными психологическими расстройствами в целях поиска генетических основ заболевания. Таких исследований явно недостаточно для формирования полной картины о наследуемости тревожности. Поэтому актуальным представляется исследование влияния генов серотонинергической системы и их полиморфных вариантов на уровень тревожности у студентов, у которых не наблюдается явных психических отклонений.

Исходя из этого, целью работы явилось исследование аллельных вариантов генов серотонинергической системы, продукты которых отвечают за биосинтез серотонина (*A218C* гена триптофангидроксилазы-1 *TPH1* и *G-703T* гена триптофангидроксилазы-2 *TPH2*), перенос (*5-HTTLPR* гена переносчика серотонина *SLC6A4*), рецепцию (*G68C* гена рецептора серотонина *5HTR2C*) и деградацию (*EcoRV* и *Fnu4HI* гена моноаминоксидазы-А *MAO-A*) для оценки их совместного влияния на показатели тревожности.

Материалы и методы. Материалом исследования служили образцы ДНК 102 студентов БГПУ им. М. Акмуллы. Все они были протестированы для определения показателей тревожности.

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 [2].

Выделение ДНК проводилось с помощью метода фенольно-хлороформной экстракции [5].

Анализ генетических полиморфизмов осуществлен методом полимеразной цепной реакции с последующим ПДРФ-анализом.

Статистическую обработку данных проводили с использованием таблиц сопряженности 2x2 (с поправкой Йэйтса), критерия χ^2 и программного обеспечения «Generalized Multifactor-Dimensionality Reduction».

Результаты и обсуждение. Было проведено добровольное тестирование студентов по методике самооценки уровня тревожности Ч.Д. Спилбергера и Ю.Л. Ханина. Классификация уровня тревожности осуществлялась исходя из следующих значений: сумма до 30 баллов показывает низкий уровень тревожности, от 31 до 44 – умеренный уровень, выше 45 баллов – высокий уровень тревожности. Полученные данные, а

именно количество баллов по шкалам СТ (ситуативной тревожности) и ЛТ (личностной тревожности), позволили анализировать как индивидуальный, так и групповой уровень тревожности. Установлено, что высокие показатели ситуативной и личностной тревожности чаще встречаются у студентов 5-го курса (с частотой 43,75% по двум шкалам). Низкие показатели ситуативной тревожности чаще встречаются у студентов 4-го курса (с частотой 16,67%), а по личностной тревожности – у студентов 1-го курса (частота 15,8%). Процент средних показателей по тесту по шкалам ситуативной и личностной тревожности выше у студентов 2-го курса (82,5% и 62,5% соответственно).

После молекулярно-генетического анализа для поиска взаимосвязи данных полиморфных локусов с показателями тревожности было проведено попарное сравнение частот генотипов и аллелей по шкалам ЛТ и СТ. Данные статистического анализа представлены в таблицах 1-2.

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.1).

Таблица 1

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

Шкала		Генотипы (частота,%±m)			Аллели (частота,%)	
	Состояние	* <i>A</i> /* <i>A</i>	* <i>A</i> /* <i>C</i>	* <i>C</i> /* <i>C</i>	* <i>A</i>	* <i>C</i>
СТ	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
	χ^2	1,5031	0,0030	2,2672	3,9968*	
	p	0,2211	0,9605	0,1325	0,0457*	
ЛТ	Состояние	* <i>A</i> /* <i>A</i>	* <i>A</i> /* <i>C</i>	* <i>C</i> /* <i>C</i>	* <i>A</i>	* <i>C</i>
	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
	χ^2	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 *TPH1* 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 *С.

При попарном сравнении частот генотипов и аллелей по полиморфному маркеру *G-703T* гена *TPH2* 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. 2). 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 2

Распределение частот генотипов и аллелей маркера *G-703T* гена *TPH2* в группах с низкими и средними показателями тревожности

Шкала		Генотипы (частота,%±m)			Аллели (частота,%)	
СТ	Состояние	* <i>G</i> /* <i>G</i>	* <i>G</i> /* <i>T</i>	* <i>T</i> /* <i>T</i>	* <i>G</i>	* <i>T</i>
	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
χ^2		5,5061*	9,3968*	1,0827	3,0898	
р		0,0195*	0,0031*	0,2991	0,0788	
ЛТ	Состояние	* <i>G</i> /* <i>G</i>	* <i>G</i> /* <i>T</i>	* <i>T</i> /* <i>T</i>	* <i>G</i>	* <i>T</i>
	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
χ^2		0,1114	0,7340	0,0394	0,0005	
р		0,7393	0,3924	0,8442	1,0005	

* р – 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 полиморфных вариантов *5-HTTLPR (SLC6A4)*, *G68C (5HTR2C)*, *EcoRV* и *Fnu4HI (MAO-A)* статистически значимых различий не было установлено.

При исследовании межгенных взаимодействий полиморфных локусов генов *TPH1*, *TPH2*, *SLC6A4*, *5HTR2C*, *MAO-A* с помощью программы GMDR была определена трехфакторная модель взаимодействия ДНК-локусов: *TPH1(A218C)*, *TPH2(G-703T)*, *MAO-A(EcoRV)*. Модель взаимодействия *TPH1(A218C)*, *TPH2(G-703T)*, *MAO-A(EcoRV)* выявляет степень формирования фенотипических различий по признаку «ситуативная тревожность». Тестируемая сбалансированная точность модели составила

0,8259; чувствительность – 0,8519; специфичность – 0,8000; повторяемость результата – 7/10, $p=0,0547$.

К сочетаниям, определяющим высокие показатели ситуативной тревожности, отнесены 8 различных комбинаций генотипов. Наиболее значимым оказались сочетания: $TRH1*A/*A + TRH2*T/*G + MAO-A*456/*456$ и $TRH1*A/*A + TRH2*T/*G + MAO-A*488/*456$. Комбинация аллельных вариантов генов $TRH1$ и $TRH2$ с низкоактивным аллелем $MAO-A*456$, приводит к повышению скорости биосинтеза и накоплению серотонина в клетках, что повышает показатели тревожности.

К сочетаниям, определяющим низкие показатели ситуативной тревожности, были отнесены 11 различных комбинаций генотипов. Из них наиболее значимым оказалось $TRH1*A/*C + TRH2*G/*G + MAO-A*488/*488$. Данная комбинация аллельных вариантов генов приводит к снижению биосинтеза серотонина и в результате – к понижению показателей тревожности.

В результате проведенного анализа GMDR обнаружены статистически значимые трехфакторные модели взаимодействия ДНК-локусов, взаимодействие которых ассоциировано с различными показателями тревожности. Сведения о межгенных взаимодействиях полиморфных вариантов генов серотонинергической системы можно рекомендовать в практике медико-генетического консультирования для определения психоэмоционального состояния. Также результаты могут быть использованы в преподавании спецкурсов по медицинской генетике на медицинских и биологических факультетах.

ЛИТЕРАТУРА

1. 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.
2. Барканова О. В. Методики диагностики эмоциональной сферы: психологический практикум [Текст] / О. В. Барканова [серия: Библиотека актуальной психологии]. – Вып.2. – Красноярск: Литера-принт, 2009. – с. 215 - 222.
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. 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.

УДК 579.25

ИССЛЕДОВАНИЕ ШТАММА-ДЕСТРУКТОРА ХЛОРФЕНОКСИУКСУСНЫХ КИСЛОТ ВИДА *SERRATIA* *MARCESCENS*

Н.С. Егозарьян

ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Н.В. Жарикова

ФГБУН «УИБ РАН»

Краткая аннотация. Проведено исследование штамма-деструктора *Serratia marcescens* IBRB-22S. Установлено, что деградация хлорфеноксиуксусных кислот находится под генетическим контролем экстрахромосомного элемента.

Ключевые слова: штамм-деструктор, *Serratia marcescens*, плазида, экстрахромосомный элемент, хлорфеноксиуксусные кислоты, ксенобиотики.

Введение. На сегодняшний день современная деятельность человека часто ведет к загрязнению окружающей среды промышленными отходами, важная роль, в утилизации которых принадлежит бактериям-деструкторам, способным использовать в качестве источника питания и энергии большое число синтетических соединений [1-2]. Известно, что одной из важных групп загрязнителей являются хлорсодержащие ароматические соединения. Среди штаммов, способных к деградации хлорфеноксиуксусных кислот особое место занимают представители вида *Serratia marcescens* [3]. Однако особенности организации генома нового штамма-деструктора изучены не в полной мере.

Цель работы – определение локализации детерминант катаболизма хлорфеноксиуксусных кислот (4-ХФУК, 2,4-Д, 2,4,5-Т) в геноме *S.marcescens* IBRB-22S.

Объектом исследования явились клетки штамма *S. marcescens* IBRB-22S, выделенного из почв промзоны г. Уфы [1]. Бактериальная культура была определена ранее согласно морфологическим, культуральным и физиолого-биохимическим характеристикам [4].

Методы. В ходе работы были использованы микробиологические, физико-химические и молекулярно-генетические методы.

Для получения препаратов геномной ДНК посевной материал выращивали на жидких и агаризованных питательных средах: LB, М 9, МПБ.

Культивирование бактерий проводили на орбитальном шейкере (120 об/мин), при температуре 30°C в течение 28 часов.

При посеве бактерий использовали глубинный способ, метод истощающего штриха, а также посев газоном (метод Дригальского).

Выделение плазмидной ДНК методом щелочного лизиса, а также фракционирование препарата плазмидной ДНК в агарозном геле проводили стандартными методами [5].

Для определения локализации генетических детерминат катаболизма хлорфеноксисукусных кислот использовали метод элиминации плазмид, которую достигли обработкой бактериальных клеток бромистым этидием, в концентрации - 50 мкг/мл.

Результаты и обсуждение. В ряде исследований ранее было показано, что деструктивные свойства бактерий могут быть детерминированы экстрахромосомными элементами [6, 7]. В настоящей работе был осуществлён поиск таких элементов у штамма *S. marcescens* 22S.

В результате исследования было выявлено, что клетки штамма *S. marcescens* IBRB-22S содержат плазмиду размером 24,5 т.п.н., получившую обозначение pSM22S.

Кроме того, было установлено, что клетки штамма *S. marcescens* IBRB-22S с утратой плазмиды pSM22S теряли способность катаболизировать 4-ХФУК, 2,4-Д и 2,4,5-Т. Данный факт свидетельствует о том, что генетические детерминанты катаболизма хлорфеноксисукусных кислот локализованы на плазмиде pSM22S штамма *S. marcescens* IBRB-22S.

Перспективы применения полученных данных несут важное экологическое значение, открывая широкие возможности в области эксплуатации новых технологий очистки окружающей среды. Исследуемый штамм может быть использован в качестве биоремедиатора, а также при разработке *in vitro* новых штаммов-деструкторов [8, 9].

ЛИТЕРАТУРА

1. Маркушева Т.В., Журенко Е.Ю., Кусова И.В. Бактерии-деструкторы фенола и его хлорированных производных. Уфа: Гилем, 2002. 108 с.
2. Жарикова Н.В., Журенко Е.Ю., Коробов В.В., Ясаков Т.Р., Анисимова Л.Г., Маркушева Т.В. Биоразнообразие бактерий-деструкторов хлорированных феноксикислот // Вестник оренбургского государственного университета, 2009, №6, с.121-123.
3. Коробов В.В., Маркушева Т.В., Кусова И.В. и др. Штамм бактерий *Serratia marcescens* В-6493 – деструктор фенола и 2,4-дихлорфенола. Биотехнология. 2006. 2: 63-65.
4. Определитель бактерий Берджи / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита и др. 9-е изд. В 2-х т. М: Мир, 1997. 799 с.
5. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование / Перевод с англ. под ред. акад. А.А. Баева и д-ра биол. наук К.Г. Скрыбина. М: Мир, 1984. 478 с.
6. Don R.H., Pemberton J.M. - Genetic and physical map of the 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-degradative plasmid pJP4 – 1985.

7. Ghosal D., You I.-S., Chatterjee D. K., Chakrabarty A. M. - Microbial Degradation of Halogenated Compounds // Science - April, 1985 - pp. 135-142.

8. Ясаков Т.Р., Анисимова Л.Г., Журенко Е.Ю., Маркушева Т.В., Коробов В.В., Жарикова Н.В. Особенности скрининга бактериальных деструкторов ксенобиотиков // Аграрная Россия. № 5, 2009, с.135.

9. Жарикова Н.В., Журенко Е.Ю., Коробов В.В., Ясаков Т.Р., Анисимова Л.Г., Маркушева Т.В. Биоразнообразие бактерий-деструкторов хлорированных феноксикислот // Вестник оренбургского государственного университета, 2009, №6, с.121-123.

ПОЛИМОРФИЗМ rs3135388 ГЕНА HLA-DRB1*1501, КАК ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ФАКТОР РИСКА РАЗВИТИЯ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА В ПОПУЛЯЦИИ РУССКИХ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

Ерыкалина И. А.

ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Ключевые слова: *рассеянный склероз, полногеномный поиск ассоциаций (GWAS), многофакторное заболевание, полиморфный локус, однонуклеотидная замена (SNP), HLA-DRB1.*

Введение. Рассеянный склероз (РС) – хроническое многофакторное прогрессирующее заболевание центральной нервной системы. Характеризуется образованием множественных очагов демиелинизации в головном и спинном мозге, рецидивирующим течением на ранних стадиях и проявлением рассеянной неврологической симптоматики [1, 5]. В литературе представлено мало данных о генетических особенностях течения данного заболевания в русских популяциях.

Роль полиморфизма гена ***HLA-DRB1*1501*** в формировании наследственной предрасположенности к РС в популяциях жителей Западной Европы была обоснована результатами полногеномных скринингов, проведенных участниками Международного Консорциума Генетики Рассеянного склероза (Multiple Sclerosis Genetics Consortium – IMSGC) [2, 6, 7]. Полагают, что полиморфизм гена ***HLA-DRB1*1501*** может вносить вклад в развитии РС, но необходима репликация результатов анализа ассоциации этого гена в популяциях разных народов [3]. Для выявления генетических вариантов подверженности к рассеянному склерозу исследовался tagSNP ***HLA-DRB1*1501*** (tagging single nucleotide polymorphisms; полиморфизм, аллельные варианты которых маркируют гаплотипические блоки).

Цель исследования - изучение роли полиморфного варианта *rs3135388* гена HLA-DRB1*1501 для прогнозирования риска развития рассеянного склероза.

Материалами исследования послужила группа больных рассеянным склерозом ($n=233$), а также группа контроля, подобранная по полу и

возрасту ($n=341$), в популяции русских, проживающих в Республике Башкортостан. Генотипирование проводилось методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени, статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакета программ "Statistica for Windows" 5.0 (StatSoft) и программного обеспечения MS Excel 2010.

В общей выборке, в группе контроля аллели $rs3135388^*C$ и $rs3135388^*T$ представлены с частотами 90,91% и 9,09% , а генотипы $rs3129934^*C^*C$, $rs3135388^*C^*T$ и $rs3135388^*T^*T$ 83,58%, 14,66% и 1,76% соответственно. В группе больных $rs3135388^*C$ и $rs3135388^*T$ представлены с частотами 85,62% и 14,38% , а генотипы $rs3135388^*C^*C$, $rs3135388^*C^*T$ и $rs3135388^*T^*T$ 74,25%, 22,75% и 3% соответственно. При дифференциации групп по признаку половой принадлежности, обнаружены статистически значимые различия для русских мужчин РБ: шансы развития заболевания повышены у лиц с генотипом $rs3135388^*C^*T$ (OR=2.5, CI:1.26-4.97) и понижены с генотипом $rs3135388^*C^*C$ ($p=0.01$ OR=0.43, CI: 0.23-0.82). Согласно литературным источникам, ген *HLA-DRB1* принадлежит главному комплексу гистосовместимости (ГКГ) и кодирует рецепторы Т-лимфоцитов. В результате данной SNP изменяется конформация белка, происходит срыв ауто толерантности организма и мишенью для Т-лимфоцитов становится миелин [4].

Таким образом, впервые в Республике Башкортостан, проведено исследование полиморфного локуса $rs3135388$ гена *HLA-DRB1^*1501*, установлена статистически значимая ассоциация данного SNP локализованного на 6 хромосоме в области бр.21.3 (MS,MIM 126200) с развитием РС. Показано, что для лиц с генотипами $rs3135388^*C^*T$ риск развития рассеянного склероза повышен в 2,5 раза, а генотип $rs3135388^*C^*C$ является протективным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусев Е.И., Дёмина Т.Л., Бойко А.Н. Рассеянный склероз. – М., 463; 1997.
2. Хусаинова А.Н. Молекулярно-генетическое исследование рассеянного склероза: полиморфизм генов цитокиновой цепи. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук, 2012.
3. Comabella M., David W. Craig., et al. Identification of a Novel Risk Locus for Multiple Sclerosis at 13q31.3 by a Pooled Genome-Wide Scan of 500,000 Single Nucleotide Polymorphisms. Plos one. 10, 2008.
4. Lang, H. L. E., Jacobsen, H., et al. A functional and structural basis for TCR cross-reactivity in multiple sclerosis. Nature Immun. 3: 940-943, 2002.
5. Nylander A., Hafler DA. Multiple sclerosis. - The Journal of Clinical Investigation, 4: 1-8, 2012.

6. Oksenberg, J. R., Barcellos, L. F., et al. Mapping multiple sclerosis susceptibility to the HLA-DR locus in African Americans. *Am. J. Hum. Genet.* 74: 160-167, 2004.
7. Willer CJ, Dymont DA, et al. Timing of birth and risk of multiple sclerosis: population based study. *Bmj* 330: 120, 2005.

УДК 633.15:631.523:581.192

АНАЛИЗ ГИБРИДОВ КУКУРУЗЫ (*ZEA MAYS L.*) МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОФОРЕЗА ЗЕИНА

Е.А. Жгулева

ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Д.Ш. Мавлютова, К.П. Гайнуллина

ФГБНУ «Башкирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства»

Ключевые слова: кукуруза, гибрид, гетерозис, зеин, электрофорез, полиморфизм.

Аннотация: Выполнено электрофоретическое исследование зеина двух гетерозисных гибридов кукурузы. Составлены их белковые формулы, проведена оценка однородности. Выявлены маркеры раннеспелости и высокой продуктивности.

Введение. Кукуруза – одна из основных культур современного мирового земледелия. На продовольствие в странах мира используется около 20% зерна кукурузы, на технические цели – 15-20% и примерно две трети – на корм. В зерне содержатся углеводы (65-70%), белок (9-12%), жир (4-8%), минеральные соли и витамины [4].

По данным FAOSTAT в Российской Федерации посевные площади кукурузы составляют около 2,4 млн. га при средней урожайности 5,0 т/га [5]. Основными зонами товарного производства кукурузы в России являются Краснодарский край, Ставропольский край, Ростовская область, центральные районы Черноземной зоны страны. В Центральном и Приволжском федеральных округах, а также в других регионах европейской части России и в Сибири значительно расширить посевы на зерно позволяет создание современных высокотехнологичных гибридов кукурузы.

Успехи в создании гетерозисных гибридов в значительной мере определяются правильным подбором исходного материала для скрещиваний – самоопыленных (инбредных) линий. Высокогетерозисные гибриды кукурузы, как правило, получаются от скрещивания генетически разнокачественных инбредных линий. Для получения гетерозисного эффекта генетические различия между родительскими формами могут иметь

даже большее значение, чем комбинационная способность [3]. Решительный сдвиг на пути к раскрытию генетической гетерогенности в морфологически однородных популяциях произошел благодаря появлению методов молекулярного анализа, основанных на белковых маркерах, причем наиболее удобным для этих целей оказался электрофорез множественных генетических полиморфных белков семян, в частности, зеина кукурузы [1, 2].

Цель исследования: оценка семян гибридов кукурузы Росс 140 СВ и Краснодарский 194 МВ методом электрофореза зеина.

Задачи:

1. Исследовать трехлинейный гибрид кукурузы Росс 140 СВ с помощью зеиновых маркеров;
2. Изучить полиморфизм запасного белка семян двойного межлинейного гибрида кукурузы Краснодарский 194 МВ;
3. На основе полученных данных составить белковые формулы изученных гибридов, определить степень их однородности.

Материалы и методы.

Исследования проводились в 2013-2014 гг. в лаборатории молекулярно-генетической экспертизы ФГБНУ Башкирский НИИСХ. Материалом для исследования послужили рандомные выборки, состоящие из 50 зерен высокогетерозисного трехлинейного гибрида Росс 140 СВ и двойного межлинейного гибрида Краснодарский 194 МВ (Россия, Кабардино-Балкарская Республика, урожай 2013 г.).

Электрофорез зеина проводили в вертикальных пластинах полиакриламидного геля по стандартной методике [2]. Гелевая пластина содержит 10% акриламида и 8 М мочевины. В раствор для экстракции зеина входит 6 М мочевины и 0,01 М дитиотрейтол. Электрофорез проводится без охлаждения в течение 5 ч. при напряжении 500-580 В.

Результаты

В наших опытах при изучении электрофоретических спектров зеина исследуемых гибридов Росс 140 СВ и Краснодарский 194 МВ для определения электрофоретической подвижности его компонентов в качестве стандарта мы использовали эталонный тип спектра линии F₂ (Франция). При регистрации компоненты записывали в величинах электрофоретической подвижности (rf), которую вычисляли по внутреннему стандарту – компоненту с rf=60, используя следующую формулу пересчета:

$$rf_x = \frac{rf_{стандарта} \cdot L_x}{L_{стандарта}}, \text{ где}$$

x – идентифицируемый компонент,

L – расстояние компонента от старта в мм.

На основе полученных нами компонентов электрофоретических спектров зеина 50 зерновок каждого гибрида были составлены их белковые формулы. При изучении гибрида Росс 140 СВ был выявлен один тип спектра маркерного белка, что свидетельствует о монотипности данного гибрида. При анализе электрофоретических спектров зеина гибрида Краснодарский

194 МВ нами было обнаружено 2 биотипа, один из которых отличался наличием компонента 37, а второй – его отсутствием. Также данные биотипы характеризовались различиями в интенсивности окрашивания компонентов 47 и 57.

При оценке гибридов на однородность руководствовались следующими критериями Госстандарта: у простых гибридов однородность зерен должна составлять не менее 95%, а у сложных – не менее 85%. Из 50 проанализированных зерен гибрида Росс 140 СВ нами было выявлено 6 зерен с отклоняющимся типом зеинового спектра. Расчетным путем установлена однородность изученной выборки семян, которая составляет 88%, что укладывается в нормы, допустимые для трехлинейного гибрида. У гибрида Краснодарский 194 МВ частота встречаемости зерновок, имеющих I тип зеинового спектра, составила 47%, II тип – 53%. Таким образом, исследуемый гибрид относится к группе низкополиморфных гибридов, для которых характерно небольшое количество типов спектра и на 2-3 лидирующих спектра в сумме приходится более 40% выборки.

Отдельные компоненты в белковых спектрах могут быть сцеплены между собой и служить в качестве маркерных комбинаций, состоящих из 2-3 компонентов. Отдельные компоненты таких блоков могут выступать в качестве самостоятельных маркеров. Известно, что гибриды, полученные от скрещивания линий с маркером 57 и без него, оказываются высокопродуктивными. В наших исследованиях материнская форма гетерозисного гибрида Росс 140 СВ, в отличие от отцовской, не содержит в своем спектре компонент 57. Кроме того, маркер 57 часто бывает сцеплен с компонентом 38, отвечающим за раннеспелость, что наблюдалось при анализе зеинового спектра высокопродуктивного раннеспелого гибрида Росс 140. Маркерный блок компонентов 38-57 визуализировался и в белковых спектрах всех проанализированных зерновок гибрида Краснодарский 194 МВ, который также характеризуется ранней спелостью и высокой продуктивностью.

Выводы и предложения

1. На основе данных спектрального анализа запасного белка семян кукурузы, выделенного из зерновок трехлинейного гибрида Росс 140 СВ и двойного межлинейного гибрида Краснодарский 194 МВ, составлены их белковые формулы.

2. Электрофоретический анализ зеина выявил 88% однородность изученной выборки семян гибрида Росс 140 СВ и показал, что гибрид Краснодарский 194 МВ является низкополиморфным и достаточно однородным в пределах двух выделенных лидирующих спектров зеина, встречающихся в изученной выборке с частотой 47% и 53%.

3. Установлено, что гибриды Росс 140 СВ и Краснодарский 194 МВ обладают комбинацией маркерных компонентов 38-57, что свидетельствует об их раннеспелости и высокой продуктивности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Конарев В.Г., Сидорова В.В., Тимофеева Г.И. Электрофорез зеина как метод идентификации, регистрации и анализа сортов, линий и гибридов кукурузы // Сельскохозяйственная биология. 1990. № 3. С. 167-177.
2. Сидорова В.В., Матвеева Г.В., Тимофеева Г.И. Анализ и регистрация линий, сортов и гибридов кукурузы по зеину методом электрофореза // Методические указания и каталог белковых формул. СПб.: ВИР. 1998. 50 с.
3. Сидорова В.В., Конарев А.В., Матвеева Г.В., Тимофеева Г.И. Использование электрофоретического спектра зеина для прогнозирования гетерозиса у кукурузы // Аграрная Россия. 2004. № 6. С. 34.
4. Таранов И.В. Совмещенные посевы кукурузы на зерно и картофеля в условиях Волгоградского Заволжья: Дис. канд. с.-х. наук. Волгоград, 2003. С. 4.
5. FAOSTAT: электронная статистическая база данных Food and Agriculture Organization of the United Nations [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://faostat.fao.org>.

УДК 615.076

ОЦЕНКА АНТИРАДИКАЛЬНЫХ СВОЙСТВ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ИЗОБОРНИЛФЕНОЛОВ

Э.Г. Закирова

ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Ю.В. Вахитова

ФГБУН «ИБГ УНЦ РАН»

Массив экспериментальных данных об участии перекисного окисления липидов в патогенезе различных заболеваний (диабет, рак, ишемия, нейродегенерация и др.) привел исследователей к изучению фенолов - класса органических соединений ароматического ряда, важной особенностью которых является нейтрализация и уменьшение повреждающего действия свободных радикалов. Актуальным направлением создания эффективных лекарственных средств является синтез пространственно-затрудненных фенолов на основе терпенофенолов. Терпенофенолы, синтезированные на основе природных монотерпенов, и содержащие в качестве алкильных заместителей изоборнильную группировку - изоборнилфенолы, являются перспективными антиоксидантами. В Институте химии Коми НЦ УрО РАН синтезирован ряд производных *o*-изоборнилфенола, представители которых обладают широким спектром биологической активности: бактерицидной,

мембранопротекторной, антитромбогенной, противовоспалительной, антирадикальной и адаптогенной.

Целью работы являлась оценка антирадикальных свойств новых производных *o*-изоборнилфенола - рацемата 2-изоборнил-4-метил-6-морфолинометилфенола (1) и *R*- и *S*- стереоизомеров (2) и (3)

Материалы и методы. Потенциальные антирадикальные свойства субстанций (1), (2), (3) были исследованы с использованием человеческой клеточной линии эмбриональной почки человека (HEK293). Измерение внутриклеточного уровня активных форм кислорода (АФК) в цитоплазме клеток HEK293 проводили с использованием модифицированного флуоресцентного зонда 2,7-дихлордигидрофлуоресцеин диацетата (CM-DCFH2-DA). Данный краситель при взаимодействии с АФК окисляется до флуоресцирующего продукта дихлорфлуоресцеина (DCF). Окислительный стресс индуцировали внесением РМА (4-форбол-12-миристан-13-ацетат) в конечной концентрации 1 мкМ. Клетки инкубировали в присутствии соединений и РМА в течение 0.5 ч в тех же условиях. Измерения проводили на мультипланшетном анализаторе 2300 EnSpire® Multimode Plate Readers ("Perkin Elmer", США). Среднее арифметическое полученных значений 3-х независимых экспериментов и стандартную ошибку среднего (SEM) находили с помощью модуля описательной статистики в программе Statistica 6.1 (StatSoft. Inc.). Сравнение экспериментальных групп проводили с использованием парного *t*-критерия Стьюдента для зависимых выборок ($n = 3$; $p < 0.05$).

Анализ влияния соединений на эндогенный уровень АФК позволил выявить следующие закономерности. Стереоизомеры (2) и (3) более выражено подавляли уровень эндогенных АФК по сравнению с рацематом (1) при низких концентрациях (0.5 мкМ). В целом, для энантиомеров (2) и (3) при повышении концентрации соединений, не отмечено способности проявлять прооксидантные свойства, которые в незначительной степени проявились у рацемата (1). На следующем этапе исследования проводили модельный эксперимент в присутствии неспецифического индуктора окислительного стресса РМА (4-форбол-12-миристан-13-ацетат). Все исследованные соединения приблизительно в одинаковой степени ингибировали РМА-индуцированную продукцию АФК (примерно на 60-65 %), однако, с ростом концентрации (5 мкМ и 25 мкМ) отмечалась незначительная тенденция к снижению антирадикальной активности. Не выявлено различий в способности рацемата и энантиомеров подавлять накопление активных форм кислорода.

Таким образом, экспериментальные данные позволяют предположить наличие антирадикальных свойств производных *o*-изоборнилфенола - как у рацемата, так и у энантиомеров, проявляемых, преимущественно, в низких концентрациях. Полученные данные дают основание к поиску новых высокоэффективных соединений и созданию на их основе оригинальных отечественных лекарственных средств.

АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНОГО МАРКЕРА rs6511720 ГЕНА *LDLR* С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ИНФАРКТА МИОКАРДА

Т.В. Иванова

ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Т.Р. Насибуллин, О.Е. Мустафина

ФГБУН «ИБГ УНЦ РАН»

Ключевые слова: инфаркт миокарда, атеросклероз, дислипидемия, холестерин, липопротеины низкой плотности.

Аннотация. С целью поиска информативных предикторов инфаркта миокарда (ИМ) проведен анализ распределения частот генотипов полиморфного маркера rs6511720 гена *LDLR* в этнически однородной группе русских РБ среди мужчин, перенёсших ИМ (373), и соответствующей контрольной группе (287). Установлено, что генотип *G/T гена *LDLR* ассоциирован с повышенным риском ИМ OR=1.85 (P=0.003, 95% CI 1.23 – 2.79).

Введение. Атеросклероз является основной причиной развития ишемической болезни сердца (ИБС), а дислипидемия - нарушение липидного обмена, играет ключевую роль в патогенезе атеросклероза, о чем свидетельствуют многочисленные экспериментальные, клинические и эпидемиологические данные. А инфаркт миокарда (ИМ) — один из наиболее тяжёлых клинических вариантов ИБС [1].

По данным мета-анализа, выявлены гены, главным образом связанные с метаболизмом холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП), достоверно ассоциированы с риском ИМ одним из них является ген *LDLR* [2], локализованный на длинном плече 19 хромосомы (19p13.2). Ген охватывает 45 кб и включает в себя 18 экзонов, контролирует синтез белка рецептора ЛПНП человека, который состоит из 839 аминокислот и богат цистеином, с множеством повторяющихся копий ДНК семейства *Alu*. Данный белок играет важную роль в поддержании гомеостаза холестерина. Так как избыточные ЛПНП значительно повышают риск атеросклероза из-за неспецифического накопления в стенках сосудов, ЛПНП-рецептор является одним из важнейших регуляторных элементов обмена липидов крови.

Также показано, что последовательности ДНК рецептора ЛПНП имеет гомологию с рецептором эпидермального фактора роста (EGF)[3].

В работе Bradley T. с соавт. показано, что у пожилого населения Великобритании полиморфизм rs6511720 гена *LDLR* связан с риском развития аневризмы брюшной аорты. Данный однонуклеотидный полиморфизм локализован в 1 интроне и ведет к замене 67+2015G>T [4].

По данным полногеномных исследований (GWAS – genome wide association study) аллель *Т является фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний [5].

Многочисленные исследования выявили существенные различия в заболеваемости ИБС представителей различных этнических групп и накопление этой патологии в отдельных семьях. Установлено, что 50-80% случаев раннего возникновения ИБС сосредоточено в 5-15% семей, что в значительной мере определяется спецификой генетического фона [6].

Исходя из вышеизложенного целью настоящего исследования являлся анализ ассоциаций полиморфного маркера rs6511720 гена *LDLR* с повышенным риском ИМ в этнически однородной группе русских Республики Башкортостана.

Материалы и методы

Материалом для анализа были образцы ДНК, выделенные из 5-6 мл цельной венозной крови. В исследование были включены 373 мужчин, перенёсших крупноочаговый ИМ в возрасте до 60 лет (средний возраст \pm стандартное отклонение $46,8 \pm 6,98$). Все больные обследованы на базе Республиканского кардиологического центра (г. Уфа). Из исследования были исключены лица с сопутствующей эндокринной патологией и другими тяжёлыми хроническими заболеваниями. Группу сравнения 287 человек, составили мужчины в возрасте от 30 до 60 лет (44.24 ± 7.87) без клинических признаков сердечно-сосудистых заболеваний. Участники исследования были русскими по этнической принадлежности в третьем поколении.

ДНК выделяли методом фенольно-хлороформной экстракции. Идентификацию аллелей генов *LDLR* проводили методом мультипраймерной аллель-специфической полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием сочетания пар праймеров, соответствующего определенному молекулярно-генетическому маркеру. Для внутреннего контроля использовали праймеры F 5'-сac cgg gga tga tga tga ttg-3' и R 5'-сса тсс сgg gag aga gaa ac-3', в результате получали фрагмент длиной 177 п.о., а также использовали аллель специфические праймеры для аллеля G 5'-сса atc aac ctc ttc ctt aag ag-3' и для аллеля T 5'-сса atc aac ctc ttc ctt aag at-3' и получали фрагменты длиной 91 п.о. Реакцию ПЦР проводили в 10 мкл реакционной смеси, содержащей 10 mM Трис-HCl, pH 9.5, 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 0.5 mM dNTP, 0.5 ед. Taq-полимеразы и 30 нг геномной ДНК, за 27 циклов (20 с – 94°C; 50 с – 62°C). Далее продукта амплификации анализировали с помощью электрофореза в 2% агарозном геле в присутствии бромистого этидия. Изображение получали с помощью гельдокументирующей системы Mega-Bioprint 1100 (Vilber Lourmat, Франция)

Статистическую значимость полученных результатов оценивали с помощью точного двухстороннего теста Фишера. Силу ассоциаций оценивали в значениях показателя соотношения шансов (odds ratio, OR).

Результаты. Результаты анализа ассоциаций представлены в таблице. Распределение частот генотипов полиморфному маркеру rs6511720 гена *LDLR* в контрольной группе соответствует теоретически ожидаемому распределению Харди-Вайнберга. В группе больных в отличие от контрольной группы существенно повышена частота генотипа *G/T (OR=1.85 95%CI 1.23 – 2.79, P=0.003) и снижена доля генотипа *G/G (OR=0.52 95%CI 0.35 – 0.78, P=0.001).

Обсуждение. Полученные результаты свидетельствуют о значительном вкладе полиморфного маркера rs6511720 гена *LDLR* в формирование наследственной предрасположенности к ИМ. Следует отметить, что дислипидемии являются одним из основных факторов риска ИМ. Поэтому полученные нами результаты согласуются с данными полученными в других исследованиях. Как отмечалось ранее, аллель *Т по данному полиморфному маркеру ассоциирована с риском развития сердечно сосудистых заболеваний.

Таким образом генотип *G/T полиморфного маркера rs6511720 гена *LDLR* может рассматриваться в качестве маркера повышенного риска развития ИМ для мужчин в этнической группе русских.

Таблица

Распределение частот генотипов по полиморфному маркеру rs6511720 гена *LDLR* в контрольной группе и группе больных ИМ

		Контроль		Больные		P
		n	p±s _p CI	n	p±s _p CI	
Генотип	*G / G	246	85.71±2.07 81.12 - 89.55	282	75.6±2.22 70.92 - 79.88	0.001617
	*G / T	40	13.94±2.04 10.15 - 18.49	86	23.06±2.18 18.88 - 27.67	0.003664
	*T/T	1	0.35±0.35 0.01 - 1.93	5	1.34±0.6 0.44 - 3.1	0.240462
Аллель	*G	532	92.68±1.09 90.24 - 94.68	650	87.13±1.23 84.51 - 89.45	0.001055
	*T	42	7.32±1.09 5.32 - 9.76	96	12.87±1.23 10.55 - 15.49	

ЛИТЕРАТУРА

1. Anderson K.M., Castelly W.P. and Levy D. Cholesterol and mortality: 30 years of follow-up from the Framingham study. JAMA 1987; 257: 2176.
2. Schunkert H., Erdmann J., Samani NJ. Genetics of myocardial infarction: a progress report. Eur Heart J, 2010; 31 (8): 918–925.
3. Russell, D. W., Schneider, W. J., Yamamoto, T., Luskey, K. L., Brown, M. S., Goldstein, J. L. Domain map of the LDL receptor: sequence homology with the epidermal growth factor precursor. Cell 37: 577-585, 1984.
4. Bradley D.T., Hughes A.E, Badger S.A, Jones G.T, Harrison S.C, Wright BJ, Bumpstead S. A variant in LDLR is associated with abdominal aortic aneurysm. Circ Cardiovasc Genet. 2013; 6(5):498-504.
5. Middelberg R.P, Ferreira M.A, Henders A.K, Heath A.C, Madden P.A, Montgomery G.W, Martin N.G, Whitfield J.B. Genetic variants in *LPL*, *OASL* and *TOMM40/APOE-C1-C2-C4* genes are associated with multiple cardiovascular-related traits. BMC Med Genet. 2011; 12: 123.
6. Баранов В.С., Баранова Е.В., Иващенко Т.Е. и др. Геном человека и "гены предрасположенности". Введение в предиктивную медицину. //Интермедика. Санкт-Петербург – 2000.- С. 243- 250.

УДК 577.21:616.1

АНАЛИЗ АЛЛЕЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГЕНОВ *XPD1* И *XPG1* В НОРМЕ И ПРИ ОНКОПАТОЛОГИИ

К.А. Измайлова, Г.Ф. Галикеева
ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Введение. Нарушение целостности в структуре генома могут привести к перерождению клетки, но этим процессам препятствуют гены системы клеточной репарации. Одними из важных генов участвующих в эксцизионной репарации являются гены *XPD1* и *XPG1*, нарушение функции которых приводит к злокачественному перерождению клетки. Ввиду выполняемых ими функций в процессе поддержания генетической стабильности изучение генов *XPD1* и *XPG1* является актуальным.

В работе использованы образцы ДНК 305 человек проживающих в РБ, среди которых 142 здоровых индивида без отягощенного онкологического анамнеза и мутации в гене *p53* и 163 онкологических больных с различной локализацией опухоли. Генотипирование проводили с использованием метода ПЦР-ПДРФ и детекцией продуктов в 7% ПААГ.

В результате попарного сравнения по полиморфному локусу rs13181(A/C) гена *XPD1* не показало достоверно значимых различий между изученными группами. Согласно литературным данным, генетический полиморфизм rs13181(A/C) в экзоне 23 кодирует аминокислотную замену в

75 положении лизина на глутамин в домене связывания активатора хеликазной активности XPD1. Замена приводит к конформационным изменениям, влияющим на взаимодействие с другими компонентами TFIIH комплекса, что и обуславливает уменьшенную репарационную активность минорного варианта белка.

В результате попарного сравнения по полиморфному локусу rs342913397 (C/T) гена *XPG1* было выявлено достоверное повышение частоты гомозиготного генотипа CC и аллеля *C как в группе здоровых индивидов, так и в группе больных ($p=0,0005$, $\chi^2=22,72$). Данный полиморфизм ведет к замене в 19 кодоне пролина на лейцин в 19 положении. В ряде исследований было показано, что форма с пролином значительно более эффективно, чем с лейцином, при участии в эксцизионной репарации.

Ген	Полиморфный вариант	Генотип/аллель	Группа здоровых индивидов		Онкобольные		p (χ^2)
			n	$p_i \pm s_p$	n	$p_i \pm s_p$	
<i>XPG1</i>	rs342913397 (C/T)	CC	99	0,04±0,02	95	0,04±0,01	0, (0,12)
		CT	28	0,005±0,04	58	0,005±0,03	0,67 (0,18)
		TT	14	0,31±0,04	10	0,31±0,03	0,36 (0,82)
		*C	226	0,94±0,01	248	0,89±0,01	0,05 (3,60)
		*T	56	0,06±0,01	78	0,11±0,01	0,05 (3,60)
<i>XPD1</i>	rs13181 (A/C)	AA	51	0,15±0,03	17	0,13±0,02	0,72 (0,12)
		AC	64	0,63±0,04	94	0,60±0,04	0,67 (0,18)
		CC	27	0,22±0,04	54	0,27±0,03	0,36 (0,82)
		*A	166	0,47±0,03	128	0,43±0,02	0,41 (0,67)
		*C	118	0,53±0,03	202	0,57±0,02	0,41 (0,67)

Таким образом полученные результаты позволяют предположить, что достоверная двухлокусная модель межгенных взаимодействий детерминирует развитие онкологических заболеваний. Распространение не протективного аллеля способствует нарушению в клеточной регуляции, что ведет к перерождению и новообразованиям.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горбунова В. Н., Имянитов Е. Н. Генетика и канцерогенез//Методическое пособие для студентов медицинских вузов. СПбГПМА, 2007. 24 с.
2. Минина В. И. Вклад полиморфизмов генов ферментов репарации ДНК в хромосомный мутагенез в лимфоцитах крови человека// Вестник КемГУ 2013 № 1 (53), 2006.
3. Мансурова Г.Н., Иванина П.В., Литвяков Н.В. Хромосомные aberrации и полиморфизм генов эксцизионной репарации у

- работников СХК с онкологическими заболеваниями // Сибирский онкологический журнал, 2008. Приложение №1. – С. 84–85.
4. Спивак И.М., Экология. Повреждение и репарация ДНК// Учебное пособие, Санкт-Петербург, 2006.
 5. Benhamou, Benhamou S., Sarasin A. ERCC2/XPD gene polymorphisms and lung cancer // American journal of epidemiology. – 2005. – Vol. 161, № 1. – P. 1 – 14.
 6. Chen S., Tang D., Xue K., Xu L., Ma G., Hsu Y., Cho S. S. //Carcinogenesis. – 2002. – Vol. 23, № 8. – P. 1321 – 1325.
 7. Monaco R., Rosal R., Dolan M.A. et al. // J. Carcino genesis. 2009

УДК 575

ИССЛЕДОВАНИЕ АЛЛЕЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВОГО СЕМЕЙСТВА ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Н.И. Ишбулатова, Э.М. Васильева, И.В. Николаев, В.Ю. Горбунова
БГПУ им. М.Акмиллы, г.Уфа

Ключевые слова:рак молочной железы, ядерный фактор-кВ, интерлейкин-1, IL-1 β , IL1RN, IL1RI, IL1RAP.

Аннотация. В рамках настоящего исследования проведен анализ ассоциации полиморфных маркеров генов ядерного фактора-кВ (*rs147169338*, *rs45581936*) и семейства интерлейкина-1 (*rs1143634*, *rs2287047*, *VNTR IL1RI*, *I/D IL1RAP*) с предрасположенностью к раку молочной железы. Увеличение частоты аллеля *IL1RN*II* и генотипа *II/II* в группе больных РМЖ по сравнению со здоровыми, свидетельствует об ассоциации данного варианта полиморфного маркера с развитием рака молочной железы. Данный полиморфизм влиял на уровень экспрессии гена и как следствие, на концентрацию интерлейкина-1 в межклеточном пространстве, что увеличивает пролиферацию клеток и может стимулировать у онкологических больных развитие метастазов.

Введение. Рак молочной железы (РМЖ)- злокачественное новообразование, развивающееся из клеток эпителия протоков и долек паренхимы железы. Возникновение рака определяет сложное взаимодействие между эндокринной и иммунной системами организма, воздействующих на трансформированные под влиянием различных канцерогенов клетки.

По данным экспериментальных исследований, одним из перспективных молекулярных маркеров РМЖ считают полифункциональный ядерный транскрипционный фактор NF-кВ, который играет важную роль в клеточной пролиферации, апоптозе, воспалительной и аутоиммунной

реакциях, регулируя экспрессию генов, вовлеченных в эти процессы [1]. Ядерный фактор-кВ представляет собой семейство из пяти белков — p50/105 (NF-кВ1) p52/100 (NF-кВ2), p65 (RelA), c-Rel и RelB. Классической формой NF-кВ является гетеродимер p50-p65. NF-кВ присутствует в цитоплазме в неактивной форме, находясь в комплексе с ингибиторными IкВ-белками. Все они имеют несколько так называемых анкириновых повторов (состоят из 30-33 аминокислот), связывающихся с Rel-доменом NF-кВ. При стимуляции NF-кВ подвергаются фосфорилированию и убиквитинизации. Это меняет конформационную структуру молекул, определяя их распознавание и разрушение внутри протеосом, что, в свою очередь, приводит к высвобождению NF-кВ, который после дополнительного фосфорилирования получает возможность мигрировать в ядро клетки, к месту своего действия [2]. Белки семейства NF-кВ связываются со специфическими сайтами на молекуле ДНК и изменяют интенсивность транскрипции различных генов задействованные в иммунном, острофазовом и воспалительном ответах. К числу таких генов относятся гены семейства интерлейкина-1.

Семейство IL-1 включает в себя 3 гомологичных белка: провоспалительные интерлейкин-1-альфа и -1-бета (IL-1A и IL-1B), противовоспалительный IL-1RN (IL-1 receptor antagonist), а так же рецепторы интерлейкина-1 I и II типа (IL1R1, IL1RII) и аксессуарный белок рецептора (IL1RAcP).

Синтез IL-1 начинается в ответ на внедрение микроорганизмов, либо повреждение тканей и необходим для развития местного воспаления и осуществления острофазового ответа [3]. IL-1 β продуцируют моноциты, макрофаги, эндотелиальные клетки, Т- и В-лимфоциты, дендритные клетки, эпителиальные клетки, кератиноциты, фибробласты, а также опухолевые клетки [4].

IL-1 β может влиять на опухолевый рост, метастазирование и ангиогенез за счет активации факторов транскрипции NF-кВ и AP-1, выработки матриксных металлопротеиназ, ростовых факторов и молекул адгезии [5]. По механизму положительной обратной связи в результате активации NF-кВ в плазме крови повышается уровень провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF- α . IL-1 способствует продукции IL-6, который, в свою очередь, стимулирует пролиферацию опухолевых клеток.

IL-1 стимулирует клеточные ответы путем взаимодействия с гетеродимерным рецепторным комплексом, состоящим из двух трансмембранных белков, белка-рецептора IL-1 типа 1 (IL-1R1) и вспомогательного белка-рецептора IL-1 (IL-1RAcP). IL-1 сначала связывается с IL-1R1; затем IL-1RAcP присоединяется в этот комплекс с приводит к индукции клеточного ответа [6]. IL-1Ra существует в виде секретируемой изоформы – sIL-1Ra и внутриклеточных изоформ – icIL-1Ra1, icIL-1Ra2 и icIL-1Ra3. Секретируемая изоформа sIL-1Ra, связываясь с рецептором IL-1 I

типа, не вызывает дальнейшей передачи сигнала и препятствует взаимодействию IL-1 с этим рецептором на клеточной мембране [7].

У человека гены, кодирующие IL-1 β , IL-1Ra, IL1RI локализованы на коротком плече 2 хромосомы. А ген *IL-1RAP* расположен на коротком плече 3 хромосомы.

В данной работе изучено распределение полиморфных маркеров по генам *IL1B C3953T*, *IL1RI T-976C*, *IL1RN VNTR 86bp*, *IL1RAP* по типу вставка/выпадение, а так же *NFKB1 Ser851Arg*, *NFKB2 Glu14Lys*.

Полиморфизм *IL-1 β* , локализованный в 5 экзоне по типу транзиции (3953C >T, *rs1143634*). У лиц, гомо- или гетерозиготных по высокопродуцирующему аллелю (*E2), продуцируется, соответственно, в 4 и 2 раза большее количество этого цитокина, чем у лиц, гомозиготных по не мутантному варианту этого гена (*E1) [8].

VNTR (variable number tandem repeat) полиморфизм по 86 п.н. в интроне 2 гена *IL1RN* имеет аллели *I (410 п.н.), *II (240 п.н.), *III (500 п.н.), *IV (325 п.н.), *V (595 п.н.). Чаще встречающийся аллель *IL-1RN*I* который содержит четыре тандемных повтора по 86 п.о., наиболее значимым из мутантных вариантов является аллель *IL-1RA*II*, несущий два повтора, остальные варианты этого гена (3, 5 и 6 повторов) встречаются редко. Носительство аллеля *IL-1RA*II* связано с повышенным уровнем циркулирующего *IL-1RN* в 10 и более раз и уровнем экспрессии мРНК в ходе воспаления [8,9].

Полиморфизм гена *IL1RI* по типу транзиции (-976T>C, *rs2287047*) приводит к изменению конформации данного белка. Аллель *T обуславливает нормальную конформацию белка, аллель *C – измененную [10].

Полиморфные маркеры генов *NF-kB1* (4q24) и *NF-kB2* (10q24) относятся к миссенс мутациям, функциональное проявление которых пока неизвестны.

Целью исследования было изучение распределения аллелей и генотипов и их сочетаний полиморфных маркеров генов ядерного фактора-кВ и цитокинового семейства интерлейкина-1.

Методы. В работе использованы образцы ДНК 270 человек, проживающих в Республике Башкортостан. Из них 135 здоровых индивидов и 135 больных раком молочной железы, находившихся на стационарном лечении в ГБУЗ Республиканском клиническом онкологическом диспансере МЗ Республики Башкортостан. В качестве здоровых индивидов были отобраны лица, являющиеся носителями «нормальных» аллелей гена *TP53* по 3 полиморфным локусам (*rs1042522*, G/C; *rs1625895*, G/A; *DUP16bp*), ранее исследованным на кафедре генетики БГПУ им.М.Акмуллы [11].

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

Определение генотипов полиморфных локусов генов *NF-kb1*, *NF-rb2*, *IL-1 β* , *IL1RN*, *IL1RI*, *IL1RAP* проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на амплификаторе «Терцик» с использованием ПЦР-микса

фирмы Евроген. Условия ПЦР были следующими: использовали реакционную смесь объемом 10 мкл, которая содержала 1,5 мкл 5xПЦР-микса, 3,5 инъекционной воды, ДНК- 1,5 мкл, по 2 мкл каждого праймера. Последовательности праймеров, температура отжига и эндонуклеазы рестрикции приведены в табл. 1.

Результаты амплификации оценивались путем проведения вертикального электрофореза в 7% полиакриламидном геле.

Для проверки соответствия эмпирического распределения частот генотипов теоретически ожидаемому равновесному распределению Харди-Вайнберга использовали модифицированный критерий $\chi^2(P)$. При попарном сравнении частот генотипов и аллелей в двух различных группах использовался двусторонний критерий Фишера p (F_2). Достоверными считали различия частот аллелей и генотипов при значении $P \leq 0.05$. Анализ межгенных взаимодействий проводили с помощью непараметрической программы Generalized Multifactor-Dimensionality Reduction (GMDR).

Таблица 1

Тип полиморфизма, последовательность праймеров и номенклатура аллелей анализируемых ДНК-локусов

Ген	Полиморфизм	Праймеры (эндонуклеазы рестрикции)	Температура отжига праймера (°C)	Аллели (размер фрагментов, п.о.)	Ссылка
<i>IL-1β</i> (2q14)	<i>3954C>T</i> (<i>rs1143634</i>)	5'-GTT GTC ATG AGA CTT TGA CC-3' 5'-TTC AGT TCA TAT GGA CCA GA-3' (TaqI)	55	*E1 (135+114) *E2 (249)	[12]
<i>IL1RN</i> (2q14.2)	<i>VNTR</i> (2 – 6 копий 86 –членного повтора)	5'-CTC AGC AAC ACT CCT AT-3' 5'-TCC TGG TCT GCA GGT AA-3'	56	*I (410) *II (240) *III (500) *IV (325) *V (595)	[12]
<i>IL1RI</i> (2q12)	<i>-976T>C</i> (<i>rs2287047</i>)	5'-TGATCTGAATTCTCACATGACCTTG-3' 5'-GGCACCACAAACTTGGAGAATAG-3' (AluI)	50	*T (450) *C (400)	[10]
<i>IL1RAP</i> (3q28)	<i>InDel</i>	5'-ATATTCCAGAAGTTTCCTTACATCTAGTGC-3' 5'-AAAGCTTTAAGTCTCCACCATCTCT-3'	60	*I (140) *D (437)	[13]
<i>NF-kb2</i> (10q24.32)	<i>Glu14Lys</i> (<i>rs45581936</i>)	5'-GCCTCCAAAAGGAGCTTTCTC-3' 5'-TGTTCCACGATCACCAGGTAG-3' (Tru9 I)	60	*T(148+209) *G(357)	
<i>NF-kb1</i> (4q24)	<i>Ser851Arg</i> (<i>rs147169338</i>)	5'-CTTCAGGAGACATGAAACAGCT-3' 5'-TGGCCAGAGATGTTAACAGAGTA-3' (HinfI)	61	*G (244) *T (138+106)	

Результаты и обсуждение

В результате анализа распределения частот аллелей и генотипов по локусам *Ser851Arg* гена *NF-kb1* и *Glu14Lys* гена *NF-kb2* выявлено наличие аллелей **Ser* и **Glu* соответственно. То есть индивиды в исследуемых группах обладают нормально функционирующими продуктами данных генов.

При анализе *VNTR*-полиморфизма в гене рецепторного антагониста интерлейкина-1 (*IL1RN*) выявлено достоверное повышение в группе здоровых генотипа *II* с частотой 45% ($p=0,03$, $\chi^2=4,81$), и аллеля **I* с частотой 63% ($p=0,0005$, $\chi^2=19,37$). В группе онкобольных было отмечено достоверное повышение генотипов *I/II* ($p=0,04$, $\chi^2=4,30$) и *II/II* ($p=0,0005$, $\chi^2=27,12$), и аллеля **II* с частотой 55% ($p=0,0005$, $\chi^2=19,37$). Согласно литературным данным, у носителей аллеля **II* отмечается увеличение продукции *IL1RN* *in vitro* и *in vivo* [14]. Некоторые авторы рассматривают носительство аллеля *IL1RN*II* как генетический детерминант в развитии онкологических заболеваний, в частности рака шейки матки, рака яичников [15] и рака молочной железы [16].

Анализ сочетаний аллелей четырех генов семейства интерлейкина-1 (*IL1B*, *IL1R1*, *IL1RN*, *IL1RAP*) выявил значимые различия между исследованными группами. Так, сочетание аллелей **E1/*T/*II/*I* ($p=0,0252$, $\chi^2=5,0372$) достоверно встречается у здоровых. Из-за чего можно предположить, что носители протективных аллелей по генам *IL1B*, *IL1R1*, *IL1RN*, *IL1RAP* являются здоровыми за счет нормального функционирования самих белков и сигнального каскада интерлейкина-1 и следует умеренной экспрессии воспалительных.

Так же было выявлено достоверное повышение частоты сочетания аллелей **E1/*T/*II/*I* ($p=0,0517$, $\chi^2=3,7859$) в группе онкобольных. А так как *IL1RA* является эндогенным ингибитором интерлейкина-1 и при носительстве «непротективного» аллеля *IL1RN*II* наблюдается повышенный уровень циркулирующего рецепторного антагониста *IL-1*, что приводит к накоплению *IL-1B* в межклеточном пространстве. Данный феномен объясняется увеличением адгезионной способности интерлейкин-рецепторного комплекса к антагонисту при наличии мутантного аллеля акцессорного белка. Несвязавшийся с рецептором *IL-1B*, концентрация которого может быть повышена за счет наличия высокопродуцирующего аллеля **E2 (rs1143634)*, может накапливаться в межклеточном пространстве в активной форме [8]. Большое количество *IL-1 β* способно блокировать апоптоз, который не позволил бы измененной клетке вступать в *S*-фазу клеточного цикла [17].

С другой стороны, увеличение в межклеточном пространстве несвязавшегося интерлейкина увеличивает пролиферацию клеток и может стимулировать у онкологических больных развитие метастазов [18].

Анализ четырехлокусной модели взаимодействия генов семейства интерлейкина-1 выявил 64 сочетаний генотипов из 81 возможных, из них

достоверным является $E1E1/CT/II/II/ID$ ($p=0,03$, $\chi^2=4,77$), которое встречается чаще у больных, что доказывает вклад антагониста рецептора интерлейкина-1 типа в развитие болезни.

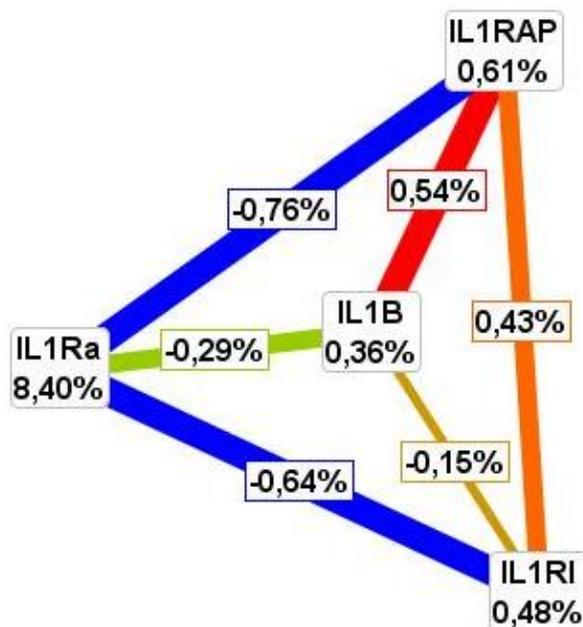


Рис.1: Модель межгенных взаимодействий

Анализ межгенных взаимодействий показал, что между генами *IL1B* и *IL1RAP*, а так же между генами *IL1RAP* и *IL1RI* 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. В данном случае $IL1RAP = 0,61\%$, в то время как $IL1B = 0,36$, $IL1RI = 0,48\%$. (рис.1).

Заключение. В данной работе изучено распределение генотипов и аллелей полиморфных маркеров генов ядерного фактора-кВ (*NF-kB1*, *NF-kB2*) и семейства интерлейкина-1 (*IL1B*, *IL1RI*, *IL1RAP*) при РМЖ и проведен сравнительный анализ сочетаний генотипов и аллелей полиморфных локусов указанных выше генов.

Обнаружена повышенная частота двухкопийных генотипов *VNTR* локуса гена *IL1RN*- *II/II* и *I/II*, а так же аллеля **II* у больных РМЖ, что свидетельствует о роле антагониста *IL1R1* в формировании данной патологии. Выявлено, что сочетанием генотипов $E1E1/CT/II/II/ID$ обеспечивающее повышение экспрессии гена антагониста *IL1R1*, что увеличивает концентрацию *IL1B* в межклеточном пространстве, обладают больные РМЖ. Установлено, что в группе здоровых индивидов достоверно больше встречаются носители протективных аллелей по исследуемым генам.

ЛИТЕРАТУРА

1. Герштейн, Е. С. Клинические исследования компонентов NF-kB-сигнального пути в злокачественных опухолях молочной железы// Лабораторная служба. - 2013. - № 1. - С. 39-45.

2. Маянский А.Н., Маянский Н.А., Заславская М.И.. Нуклеарный фактор- κ B и воспаление. Цитокины и воспаление. 2007. Т. 6, № 2. С. 3-9.
3. Симбирцев А.С., Конусова В.Г., Кетлинский С.А. Иммуноцитохимический анализ продукции интерлейкина-1 β моноцитами человека // Бюлл. exper. биол. мед.- 1991.- № 9.- С. 278-280.
4. Ferrero-Miliani L. Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 beta generation/ L. Ferrero-Miliani, O.H Nielsen, P.S Andersen, S. E.
5. Lewis A. M. Interleukin-1 and cancer progression: the emerging role of interleukin-1 receptor antagonist as a novel therapeutic agent in cancer treatment / A. M. Lewis, S. Varghese, H. Xu, H. R. Alexander // J. Transl. Med. – 2006. – Vol. 4. – P. 48.
6. Greenfeder S., Nunes G., Kwee L., Labow M., Chizzonite R. and Ju G. (1995) Molecular cloning and characterization of a second subunit of the interleukin 1 receptor complex. J. Biol. Chem. 270, 13747±13756.
7. Соснина А.В., Великая Н.В., Аутеншлюс А.И. Роль цитокинов в патогенезе злокачественных новообразований /–Новосибирск : Вектор-Бест, 2013. – 80 с.
8. Громова А. Ю. Полиморфизм генов семейства IL-1 человека / А. Ю. Громова, А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. –2005. – Т. 4. – № 2. – С. 3–12.
9. Бахтиярова К.З. Рассеянный склероз в Республике Башкортостан: клинико-эпидемиологическое и молекулярно-генетическое изучение: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М 2007.
10. Bergholdt R., Larsen Z.M., Andersen N.A. et al. Characterization of new polymorphisms in the 5' UTR of the human interleukin-1 receptor type 1 (IL1R1) gene: linkage to type 1 diabetes and correlation to IL-1RI plasma level // Genes and immunity. 2000. V.1. P. 495–500.
11. Ганцев Ш.Х., Горбунова В.Ю., Галикеева Г.Ф., Воробьева Е.В., Васильева Э.М., Рустамханов Р.А. Функционирование генов онкосупрессии (TP53, BRCA1) и их взаимодействие с цитокинами при раке молочной железы. // Креативная онкология и хирургия. Электронный научно-практический журнал. 04.2012.
12. Chen W.-C., Wu H.-C., Chen H.-Y., et al. Interleukin-1 β gene and receptor antagonist gene polymorphisms in patients with calcium oxalate stones // Urol Res. 2001. V. 29. P. 321–324.
13. Watkins LR, Milligan ED, Maier SF. Glial activation: a driving force for pathological pain. Trends in Neuroscience. 2001;24:450–455.
14. Hurme M., Santtila S. IL-1 receptor antagonist (IL-1RA) plasma levels are co-ordinately regulated by both IL-1RA and IL-1 β genes // Eur J Immunol. 1998. V. 28. P. 2598–2602.

15. Sehouli J, Mustea A, Koensgen D, Lichtenegger W. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism in epithelial ovarian cancer // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003. V.11. P.1205-1213.
16. Grimm C, Kantelhardt E, Heinze G, Polterauer S, Zeillinger R, Kölbl H, Reinthaller A, Hefler L. The prognostic value of four interleukin-1 gene polymorphisms in Caucasian women with breast cancer: a multicenter study // *BMC Cancer.* 2009. V6. P.78.
17. Deuel T.F. Polypeptide growth factors: roles in normal and abnormal cell growth // *Annu Rev Cell Biol.* 1987. Vol. 3. P. 443–492.
18. Бережная Н.М. Роль клеток системы иммунитета в микроокружении опухоли. Взаимодействие клеток системы иммунитета с другими компонентами микроокружения // *Онкология.* 2009. Т. 11. №2. С. 86–93.

УДК 575.2

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ АЛЛЕЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГЕНОВ ЦИТОХРОМОВ P450 2C (CYP2C9 И CYP2C19) У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Ю.А.Калимуллина, Э.М.Васильева
ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Ключевые слова: *CYP2C9*, *CYP2C19*, цитохромы P450, онкология, полиморфизм.

Краткая аннотация. Проведен анализ аллельных состояний генов *CYP2C9* (*rs1799853*) C/T и *CYP2C19* (*rs4244285*) G/A у здоровых индивидов и больных онкологическими заболеваниями. Выявлены достоверно значимые различия между группами по полиморфному локусу гена *CYP2C9*. Установлена роль *CYP2C9*2* в развитии онкопатологии.

Введение. В настоящее время нет сомнений в том, что рак – это мультифакторное заболевание, роль в развитии которого играют многие гены. К компонентам, формирующим патологические процессы можно отнести систему биотрансформации ксенобиотиков [1-2], которой отведена ключевая роль в устойчивости организма к агрессивным факторам внешней среды [2]. Нередко промежуточные продукты биотрансформации могут быть более токсичными, обладать более выраженными мутагенной, канцерогенной и даже тератогенной активностями, чем исходные соединения, и вследствие этого быть причиной различных патологических состояний и болезней [3]. Полиморфные варианты генов биотрансформации ксенобиотиков индивидов исследуется в качестве возможного фактора риска возникновения различных онкологических заболеваний [4]. Наличие полиморфных вариантов генов биотрансформации, снижающих или блокирующих экспрессию генов, во

многих исследованиях связывают с повышенным риском развития заболеваний, особенно онкологических [4].

Целью данного исследования стал анализ аллельных состояний генов первой фазы биотрансформации ксенобиотиков – цитохрома P450 (*CYP2C9* и *CYP2C19*) в норме и при онкопатологии. В связи с этим ставится задача в оценке распределение частот аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов *CYP2C9* (*rs1799853*) и *CYP2C19* (*rs4244285*) у здоровых индивидов и больных онкологическими заболеваниями.

Материалы и методы. В данной работе были использованы образцы ДНК 286 человек, из которых 122 здоровых индивида и 164 онкологических больных. Вид рака, его стадия и локализация не учитывалась, онкопатология рассматривается как фактор.

ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции[5]. Генотипирование полиморфных локусов генов биотрансформации ксенобиотиков (*rs1799853* (C/T) в гене *CYP2C9* и *rs4244285* (G/A) в гене *CYP2C19*) проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) ДНК с использованием локус-специфических олигонуклеотидных праймеров. Далее проводили рестрикционный анализ (эндонуклеазы рестрикции SMAI и AvaII(Eco471) для *CYP2C9* и *CYP2C19* соответственно) и электрофорез фрагментов ДНК в 7% полиакриламидном геле. Результаты реакции оценивали в проходящем УФ-свете после окраски геля раствором 1% этидия бромида. Статистическая обработка данных проводилась с использованием критерия Стьюдента. Различия считались статистически достоверными при $p < 0,05$. Использовались программы MS Excel и Statistica 6.0.

Результаты и обсуждения. Согласно литературным данным гены биотрансформации ксенобиотиков *CYP2C9* и *CYP2C19* могут влиять на промоцию канцерогенеза и прогрессию опухоли, так как они участвуют в обмене эндогенных субстратов, таких как половые гормоны, кортикостероиды, холестерин, желчные кислоты, ретиноевая и арахидоновая кислоты и др. [6-7]. Экспрессия некоторых аллелей генов *CYP2C9*, *CYP2C19* коррелирует с повышенным риском онкологических заболеваний [6-9]. В связи с этим нами были проанализированы полиморфные локусы *rs1799853* (C/T) и *rs4244285* (G/A) генов *CYP2C9* и *CYP2C19* соответственно, в группах здоровых индивидов и онкологических больных.

CYP2C9 располагается на 10 хромосоме, в области q24.1. Вовлечен в NADPH-зависимый транспорт электронов и в окислительный путь различных структурно неродственных соединений, в том числе стероидов, жирных кислот, и ксенобиотиков. Полиморфный вариант 430C>T (*CYP2C9**2) является одним из самых распространенных по современным литературным данным. Мутация гена ведёт к замене аминокислоты аргинина на цистеин в положении 144 полипептидной цепи, характеризуется снижением активности *CYP2C9* относительно нормального аллельного варианта, не содержащего мутаций (*CYP2C9**1) [10].

Анализ распределения частот аллелей и генотипов по полиморфному локусу *rs1799853* (C/T) в гене *CYP2C9* выявил достоверно значимые различия между группами больных и здоровых индивидов. Так, гомозиготный генотип *TT* выявлен только у онкобольных (рис. 1) с частотой $2,5 \pm 0,15\%$ ($p=0,002$, $\chi^2=9$). Также аллель **T* преобладала у больных раком индивидов ($p=0,036$, $\chi^2=4,46$), тогда как в группе здоровых индивидов преобладала аллель **C* ($p=0,002$, $\chi^2=9,18$). Выявлено достоверное повышение частоты гетерозиготного генотипа *CT* ($p=0,0005$, $\chi^2=55,84$) у людей с онкопатологией.

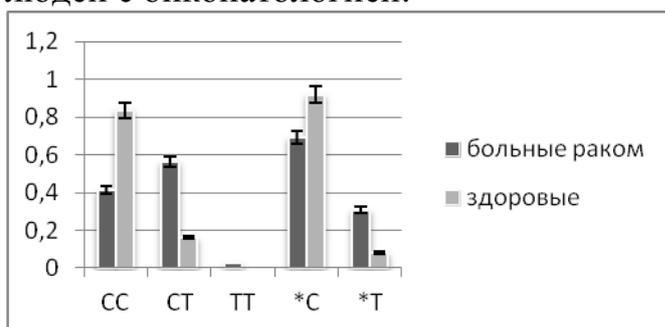


Рис. 1. Распределение частот генотипов и аллелей полиморфных локусов гена *CYP2C9* у онкобольных и здоровых индивидов

CYP2C19 расположен на 10 хромосоме в области q24.3. Содержит 9 экзонов. Участвует в гидроксировании мефетоина и других ксенобиотиков. Наиболее часто встречающийся полиморфный вариант – *CYP2C19*2*, который состоит из мутации пар оснований в 5 экзоне (681 G>A). Эта мутация создает aberrантный сайт сплайсинга, генерирует усеченный белок, которому не хватает гем-области связывания с субстратом, из-за чего белок полностью лишен каталитической активности[11].

При анализе распределения частот аллелей и генотипов по полиморфному локусу *rs4244285* (G/A) в гене *CYP2C19* у здоровых индивидов и онкобольных достоверных различий не обнаружено (рис. 2).

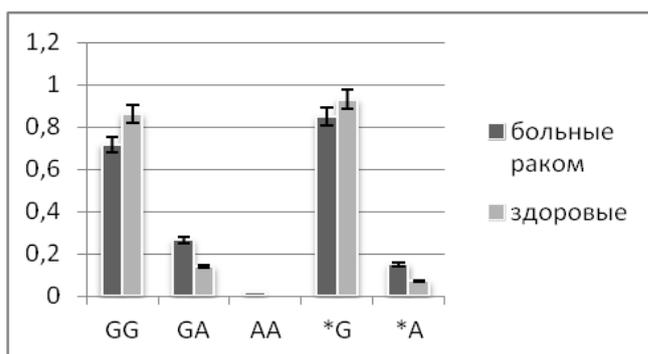


Рис. 2. Распределение частот генотипов и аллелей полиморфных локусов гена *CYP2C19* у онкобольных и здоровых индивидов.

Таким образом, полученные результаты позволяют говорить о важности аллельного состояния гена *CYP2C9* биотрансформации ксенобиотиков, который может явиться фактором, обуславливающим развитие онкологического заболевания. У онкобольных выявлено достоверное повышение частоты генотипа *CT* (*rs1799853*) и аллеля **T* гена *CYP2C9*.

В гене *CYP2C19* достоверных различий между исследуемыми группами не обнаружено. По литературным данным, этот ген участвует в метаболизме

эндогенных субстратов, таких как половые гормоны, эстрадиол [6-7], поэтому возможно будет целесообразно разделить группу больных индивидов по виду рака, особенное внимание уделив раку молочной железы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баранов, В.С., Е.В. Баранова, И.Н. Иващенко. Геном человека и гены «предрасположенности» (введение в предиктивную медицину). СПб.: Интермедика, 2000. 272 с.
2. Имянитов, Е.Н., К.П. Хансон. Молекулярная онкология: клинические аспекты. СПб.: Издательский дом СПбМАПО, 2007. 211 с.
3. Кулинский В.И. Обезвреживание ксенобиотиков // Сорос. образоват. журнал. 1999. № 1. С. 8–12.
4. Ляхович В.В., Вавилин В.А., Гуткина Н.И. и др. Гены и ферменты системы метаболизма ксенобиотиков в онкопатологии // Вопр. мед. химии. 1997. Т. 43. Вып. 5. С. 330–337.
5. Mathew C.C. The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA // *Methodes in Molecular Biology*. V. 2. N.Y., 1984. P. 31-34.
6. Турусов В.С., Белицкий Г.А., Пылев Л.Н., Кобляков В.А. Канцерогенез, Медицина М.: Наука, 2004. с. 204-224.
7. Daniel W. Nebert, Timothy P. Dalton. The role of cytochrome P450 enzymes in endogenous signalling pathways and environmental carcinogenesis // *Nature Reviews Cancer* . 2006 №6. С. 947-960
8. Tulsyan S, Agarwal G, Lal P, Mittal B. Significant role of CYP450 genetic variants in cyclophosphamide based breast cancer treatment outcomes: a multi-analytical strategy // *Clin Chim Acta*. 2014
9. Paul S, Chaudhuri T, Pant MC, Parmar D, Srivastava K. Association of cytochrome P450 2C9 polymorphism with locally advanced head and neck squamous cell carcinoma and response to concurrent cisplatin-based radical chemoradiation // *South Asian J Cancer*. 2014
10. Rettie AE, Jones JP. Clinical and toxicological relevance of CYP2C9:drug-drug interactions and pharmacogenetics // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* №45. 2005. С. 477–94
11. de Morais S.M, Wilkinson G.R, Blaisdell J, Nakamura K, Meyer U.A, Goldstein J.A // *The Journal of biological chemistry*. 1994. №22.

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БАКТЕРИИ РОДА *GORDONIA*

А. М. Камалов
ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы»
Н. В. Жарикова
ФГБУН «УИБ РАН».

Ключевые слова: бактерия, род *Gordonia*, филогения, ген *16S pPHK*, филогенетическое древо.

Аннотация. В данной работе проведен филогенетический анализ штамма 5Д, выделенного из промышленной зоны г. Уфа. Сравнительный анализ нуклеотидной последовательности гена *16S pPHK* показал, что данный штамм является бактерией вида *Gordonia alkalivorans*.

Введение. Начиная с конца 1970-х годов бурно развивается филогенетика (геносистематика), строящая родственные связи на основе сходств и различий последовательностей ДНК и белков. Значительный вклад в развитие геносистематики внес Карл Везе (1928-2012) – американский микробиолог, первооткрыватель таксона архей и создатель филогенетического подхода классификации организмов по генам рРНК [1]. На основе классификации организмов по генам рРНК была создана концепция трехдоменной организации органического мира.

В 1971 году Tsukamura M. высказал необходимость выделения из состава родококков новой группы бактерий, однако только лишь в 1988 году была доказана целесообразность создания нового таксона *Gordonia*. В настоящий момент систематика актиномицет, куда входит род *Gordonia*, активно пересматривается с позиции естественной систематизации таксонов.

Цель работы – методом сравнительного анализа нуклеотидной последовательности гена *16S pPHK* определить филогенетическое положение штамма 5Д – деструктора хлорароматики.

В процессе исследования были решены следующие **задачи**:

- 1) Выделить геномную ДНК из клеток культуры 5Д;
- 2) Выполнить амплификацию гена *16S pPHK* штамма 5Д методом полимеразной цепной реакции;
- 3) Провести сравнительный анализ последовательностей гена *16S pPHK* штамма 5Д;
- 4) Определить филогенетическое положение штамма 5Д с построением филогенетического древа.

Практическая значимость работы – полученная нуклеотидная последовательность гена *16 S pPHK* нового природного штамма *Gordonia alkalivorans* будет применена в практике генотипирования штаммов рода *Gordonia*.

Новизна работы – по результатам сравнительного анализа нуклеотидной последовательности гена *16S rPHK* определено таксономическое положение нового природного штамма вида *Gordonia alkalivorans*.

Материалы и методы исследования. В качестве объекта исследования была использована оригинальная культура 5Д, выделенная из природных популяций и предварительно отнесенная к группе актиномицетов.

Посев культуры. Для посева объектов исследования использовали как жидкие, так и твердые агаризованные среды: LB, солевая среда М9, МПБ. Биомассу помещали в 3 мл богатой питательной среды и выращивали при температуре 28°C в течение ночи. Выросшие суспензию разводили до концентрации 10^{-7} . Для высева на чашки Петри с богатой питательной средой были взяты три наименьшие концентрации. Использовали глубокий посев, метод Дригальского, метод истощающего штриха. После инкубации при температуре 28°C в течение 3-5 суток, осматривали хорошо выросшие колонии на предмет отсутствия заражения. Чистую культуру использовали для выделения тотальной ДНК.

Выделение геномной ДНК. Для выделения ДНК применяли методику, основанную на модифицированном методе щелочного выделения ДНК Бирнбойма-Доли и Wizard-технологии фирмы Promega (США).

После приготовления необходимых растворов, из небольшого количества биомассы по вышеописанной методике были выделены две пробы геномной ДНК культуры 5Д. Очищенную ДНК хранили в холодильнике при -18°C.

Электрофорез геномной ДНК штамма 5Д. Перед проведением электрофореза был приготовлен 10× боратно-щелочной буфер и раствор бромистого этидиума (в концентрации 0,5 мкг/мл) для последующей окраски агарозного геля. Затем готовили 1% агарозный гель. Далее исследуемую пробу геномной ДНК смешивали с буфером, содержащим 5% глицерина и краситель (0,025% бромфенолового синего или 0,025% ксиленцианола) и наносили в лунки агарозного геля. Электрофорез нуклеиновых кислот проводили при напряженности электрического поля 6 В/см в течение 40 мин. По окончании электрофореза гель красили 5 мин в растворе бромистого этидиума (в концентрации 0,5 мкг/мл). После окрашивания гель просмотрели в проходящем УФ-свете и сфотографировали.

Аmplификации гена *16S rPHK* штамма 5Д. Для проведения полимеразной цепной реакции гена *16S rPHK*, с целью получения полноразмерной копии гена *16S rPHK*, была использована универсальная праймерная система с праймерами 8-27F и 1492R.

Так как объем пробы амплификационной смеси составлял 50 мкл, был приготовлен общий раствор-микс на объем 200 мкл следующего состава:

1x буфер ДНК полимеразы BioTaq - 20 мкл

10мМ dNTP - 20 мкл

20пМ 8-27F - 20 мкл

20пМ 1492R - 20 мкл
ДНК полимеразы BioTaq 2мкл
H₂O(MQ) -106 мкл

Затем микс был разлит по 18мкл в 4 эппендорфа (на 200мкл), к которым была добавлена матрица ДНК по 3 мкл. В отрицательный контроль вместо матрицы была добавлена H₂O(MQ). В качестве положительного контроля использовалась проба геномной ДНК, ранее идентифицированного по гену *16SpPHK* штамма.

Анализ продуктов ПЦР. Для анализа продуктов ПЦР был проведен электрофорез 2-х проб, положительного и отрицательного контроля ПЦР в 2% агарозном геле.

По окончании электрофореза гель красили 5мин в растворе бромистого этидиума (в концентрации 0,5 мкг/мл). После окрашивания гель просмотрели в проходящем УФ-свете и сфотографировали.

Анализ последовательностей гена *16S pPHK*. Секвенирование полученных ПЦР-фрагментов генов, кодирующих *16S pPHK*, проводили по методу Сэнгера с помощью набора реактивов Big Dye Terminator v.3.1 (Applied Biosystems, Inc., USA) на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3730 (Applied Biosystems, Inc., USA) согласно инструкциям производителя. Размер амплификанта гена, кодирующего *16S pPHK*, составил 1420 нуклеотидов. Дальнейший анализ проводился с помощью биоинформатических методов.

Был проведен анализ полученной последовательности путем сравнения с аналогичными последовательностями, помещенными в базу данных GenBank. Первичный анализ сходства нуклеотидных последовательностей генов *16S pPHK* изучаемых штаммов проводили с помощью программного пакета BLAST. Последовательность гена *16S pPHK* штамма 5Д была выровнены с указанными в таблице соответствующими последовательностями ближайших видов бактерий с помощью программы CLUSTAL.W.

Бескорневое древо строилось с использованием программы MEGA 4.

Результаты и обсуждение. В ходе настоящего исследования был проведен сравнительный анализ последовательности гена *16S pPHK* штамма 5Д путем сравнения с последовательностями, помещенными в базу данных GenBank.

На основе первичного анализа нуклеотидных последовательностей было выстроено филогенетическое древо (рис.1).

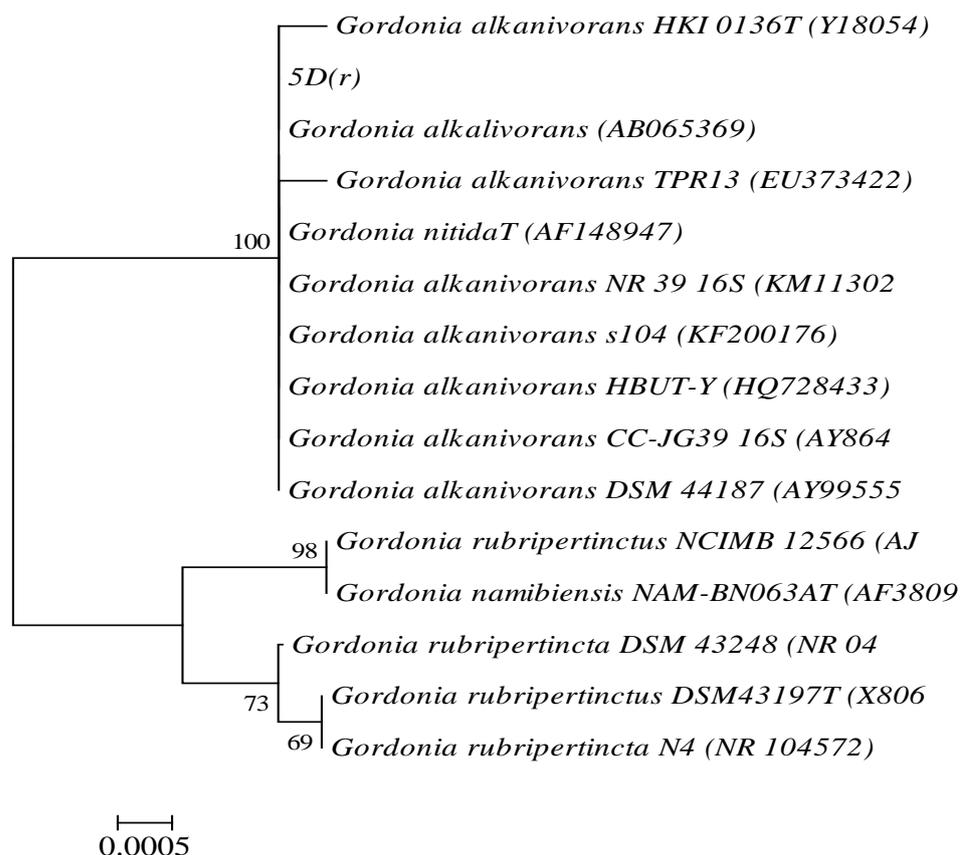


Рис 1. Бескорневое древо, построенное с помощью программы MEGA 4.

На рис 1. приведены результаты анализа последовательности гена *16S pPHK* штамма 5Д. Из полученных данных следует, что филогенетически наиболее близкими к исследованному образцу штамма 5Д среди представленных бактерий были бактерии видов *Gordonia alkalivorans*, *Gordonia namibiensis*, *Gordonia rubripertinctus*.

Уровень сходства последовательностей исследуемого образца с штаммами *Gordonia alkalivorans* составил 100 %.

Уровень сходства последовательностей образца 5Д и штаммов *Gordonia namibiensis*, *Gordonia rubripertinctus* составил 98 %.

По существующим в настоящее время представлениям, обнаруженный уровень сходства последовательностей *16S pPHK* позволяет отнести изучаемую культуру 5Д к виду *Gordonia alkalivorans*.

Обсуждая полученные данные, следует отметить, что бактерии рода *Gordonia* являются актиномицетами и до определенного времени относились к роду *Rhodococcus*. Выделение из состава родококков новой группы бактерий (*Gordonia*) обосновал в 1971 году Tsukamiga M., однако только лишь в 1988 году была доказана целесообразность создания нового таксона *Gordonia*.

Следует отметить, что в настоящий момент систематика актиномицет, куда входит род *Gordonia*, пересматривается с позиции естественной систематизации таксонов. Этому способствует развитие молекулярно-генетических методов, а также вклад ряда ученых [2], а именно:

1. Корреляция нуклеотидного состава ДНК с положением организмов в системе, открытая Белозерским А.Н. и Ли К. в конце 1950-х годов;
2. Гипотеза молекулярных часов Цукерканделя Э. и Полинга Л., выдвинутая в начале 1960-х годов;
3. Нейтральная теория молекулярной эволюции Кимуры М., предложенная в конце 1960-х годов;
4. «Рибосомальная» филогения организмов, предложенная Везе К. в конце 1970-х годов.

Сейчас известно более 20 видов бактерий рода *Gordonia*. Представители этого рода были выделены из различных почвенных образцов наземных и водных местообитаний, мокроты пациентов с инфекционными легочными заболеваниями, а также из биофильтров для очистки газов [3;4].

Бактерии рода *Gordonia* имеют определенные морфологические особенности. Представители гордоний характеризуются как грамположительные или грамвариабельные аэробные бактерии, частично устойчивые к воздействию кислот. Цвет колоний может быть белым, розовым, желтым, красным, оранжевым [5]. Диаметр колоний равен 0.2-2 мм, они могут быть гладкими или шероховатыми [6]. В процессе жизнедеятельности формируются неподвижные палочки и кокки [7]. В состав клеточной оболочки входят миколовые кислоты, содержащие 48—66 атомов углерода и имеющие до 4 двойных связей. Преобладающими фосфолипидами в клетке являются – дифосфатидилглицерол, фосфатидилинозитолдиманнозиды, фосфатидилэтаноламин. Эфиры жирных кислот имеют от 16 до 18 атомов углерода. Основной изопренолог - МК-9 (H_2). Род *Gordonia* играет большую роль в жизни человека и окружающей среде. Среди представителей встречаются условно-патогенные для человека виды, такие как *G. bronchialis*, *G. polyisoprenivorans*, *G. rubripertincta*, *G. sputi*, *G. terrae* [8]. Проявлением инфекции являются острые и хронические легочные воспалительные процессы.

Некоторые представители обладают способностью к разложению ксенобиотиков. Они способны разлагать алифатические и ароматические углеводороды, галогенированные ароматические соединения, бензотиофен, нитрил, полиизопрен, ксилол и др. [8]. Эти особенности открывают возможность использования для ремедиации загрязненных территорий опасными веществами, в том числе нефтью, а также создание эффективных биофильтров. Ряд авторов приводят данные о способности некоторых бактерий рода *Gordonia* к биодесульфатации угля и сырой нефти, что приводит к уменьшению выбросов оксидов серы в атмосферу при сжигании данных ископаемых [9]. Полезные свойства нашли применения и в пищевой промышленности. Бактерии рода *Gordonia* способны производить каротиноиды, тем самым предоставляя возможность создавать пищевые добавки для птицефабрик и рыбных ферм [8].

Изученный в настоящей работе штамм - деструктор хлорароматики может быть применен в области очистки окружающей среды.

Таким образом, по результатам сравнительного анализа нуклеотидной последовательности гена *16S рРНК* определено таксономическое положение нового природного штамма 5Д вида *Gordonia alkalivorans*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кунин Е. В. Логика случая. О природе и происхождении биологической эволюции/Пер. с англ. The Logics of Chance. The Nature and Origin of Biological Evolution. — М: ЗАО Издательство Центрполиграф, 2014. — 527 с.
2. Турова Т. П. Применение методов геносистематики для решения вопросов таксономии и изучения биоразнообразия прокариот. Диссертация в виде научного доклада на соискание ученой степени доктора биологических наук //Москва. – 2009.- 87 с.
3. Bendinger B. et al. *Gordonia hydrophobica* sp. nov., isolated from biofilters for waste gas treatment //International journal of systematic bacteriology. – 1995. – Т. 45. – №. 3. – С. 544-548.
4. Klatt S. et al. *Gordonia hirsuta* sp. nov //International journal of systematic bacteriology. – 1996. – Т. 46. – №. 4. – С. 876-880.
5. Xue, Y., X. Xuesong, P. Zhou, R. Liu, F. Liang, and Y. Ma. 2003. *Gordonia paraffinivorans* sp. nov., a hydrocarbon-degrading actinomycete isolated from an oil-producing well. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 53:1643-1646.
6. Kummer C., Schumann P., Stackebrandt E. *Gordonia alkanivorans* sp. nov., isolated from tar-contaminated soil //International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 1999. – Т. 49. – №. 4. – С. 1513-1522.
7. Беркли Р. и др. Определитель Берджи. В 2-х томах Т. 2: Пер. с англ./Под ред. Дж. Хоулта, Н.Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса. – М.: Мир, 1997. - 432 с., ил.
8. Arenskötter M., Bröker D., Steinbüchel A. Biology of the metabolically diverse genus *Gordonia* //Applied and Environmental Microbiology. – 2004. – Т. 70. – №. 6. – С. 3195-3204.
9. Abbad-Andaloussi S., M. Warzywoda, and F. Monot. 2003. Microbial desulfurization of diesel oils by selected bacterial strains. Oil Gas Sci. Technol. 58:505-513.

ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ *Alu*- ИНСЕРЦИОННЫХ ЛОКУСОВ В ГЕНАХ *EVI5*, *RKND1L1*, *STK38L* С ДОЛГОЛЕТИЕМ.

А.К.Мазай

ФГБОУ ВПО «БГПУ им М. Акмуллы»

Д.Д. Каримов, В.В Эрдман, Т.Р. Насибуллин, О.Е. Мустафина

ФГБУН «ИБГ УНЦ РАН»

Среди гипотез о причинах и механизмах старения особое внимание привлекает гипотеза о роли нестабильности генома. Одним из пусковых механизмов нестабильности генома является активация *Alu*-элементов под влиянием стрессоров [1]. Исходя из этих фактов возникает вопрос: может ли *Alu*-инсерционный полиморфизм влиять на вариабельность продолжительности жизни человека?

В работе была использована выборка из 1722 человек, в возрасте 20 – 109 лет, этнических татар, проживающих в РБ. Выделение ДНК осуществлялось методом фенольно-хлороформной экстракции; генотипирование по полиморфным *Alu*-инсерционным локусам 1104685458125 в гене *EVI5*, Yb8AC702 в гене *RKND1L1* и Ya5ac2145 в гене *STK38L* проводилось методом ПЦР; статистический анализ производился с использованием ПО SPSS V. 13.0. Для сравнения частот аллелей и генотипов использовался точный двусторонний тест Фишера.

При анализе результатов исследования выборку подразделяли на возрастные группы согласно классификации, принятой на 7-й Всесоюзной конференции по проблемам возрастной морфологии, физиологии и биохимии: 21 - 35 лет (первый зрелый возраст), 36 - 60 лет (второй зрелый возраст), 61 - 75 лет (пожилой возраст), 76 - 90 лет (старческий возраст), 91 и старше (долгожители) [2].

Охарактеризовано распределение частот генотипов и аллелей *Alu*-элемента 1104685458125 в гене *Evi5* (1p22.1). Частоты генотипов *EVI5**I/*I, *EVI5**I/*D и *EVI5**D/*D составляли 88.35%, 10.04%, и 1.61% соответственно. Эмпирическое распределение частот генотипов соответствует теоретически ожидаемому ($p=0.4464$). При подразделении выборки по гендерным и возрастным особенностям статистически значимых различий не выявлено.

Выявлена ассоциация с возрастом полиморфного *Alu*-инсерционного локуса Yb8AC702 в гене *RKND1L1* (8q23.2). Частоты генотипов *RKND1L1**I/*I, *RKND1L1**I/*D, *RKND1L1**D/*D в популяции составляли 21,1%, 54,25% и 24,65% соответственно ($p=0,00082$). Результаты попарного сравнения частот аллелей в разных возрастных групп показало, что с возрастом происходит статистически достоверное уменьшение частоты аллеля *RKND1L1**I и статистически достоверное увеличение частоты аллеля

PKHD1L1*D. Были выявлены статистически значимые различия в частотах генотипов PKHD1L1*I/*D и PKHD1L1*D/*D у лиц пожилого возраста по сравнению с лицами старческого возраста ($p=0,0167$ и $p=0,0074$ соответственно) и долгожителями ($p=0,0231$ и $p=0,0106$ соответственно).

Согласно результатам попарного сравнения частот аллелей среди мужчин в группе долгожителей частота аллеля PKHD1L1*D существенно повышена, а частота аллеля PKHD1L1*I существенно снижена ($p<0,05$). Были так же выявлены статистически значимые различия в частоте генотипа PKHD1L1*I/*D у лиц пожилого возраста по сравнению с лицами первого зрелого ($p=0,0396$) и второго зрелого ($p=0,0426$) возрастов. При сравнении частот аллелей и генотипов в различных возрастных группах среди женщин статистически значимых различий обнаружено не было.

Согласно результатам логистического регрессионного анализа вероятность накопления генотипа PKHD1L1*I/*I растёт у женщин в возрасте 86 – 94 лет ($P=0,046$, OR=1.116, CL_{OR}=1.002 – 1.243) и снижается у мужчин 80 – 98 лет ($P=0.017$, OR=0.876, CL_{OR}=0.785 – 0.977). Вероятность накопления генотипа PKHD1L1*D/*D повышается у мужчин 60 – 83 лет ($P=0.009$, OR=1.071, CL_{OR}=1.017 – 1.127), а также у женщин 20 – 109 лет ($P<0.001$, OR=1.025, CL_{OR}=1.013 – 1.038).

Таким образом, генотип PKHD1L1*D/*D можно рассматривать как фактор долголетия.

Охарактеризовано распределение частот Alu-инсерционного локуса Ya5ac2145 гена STK38L (12p11.23). Частоты генотипов STK38L *I/*I, STK38L *I/*D и STK38L *D/*D составляли 1,93%, 17,7%, и 80,37% соответственно. При попарном сравнении частот аллелей и генотипов статистически значимых различий между возрастными группами обнаружено не было.

С помощью логистического регрессионного анализа было обнаружено увеличение шанса обнаружения генотипа STK38L*I/*D у лиц 50 – 109 лет и снижение частоты генотипа STK38L*I/*I у лиц 71 – 109 лет. Также было обнаружено увеличение шанса обнаружения генотипа STK38L*I/*D у мужчин в возрасте 70 – 98 лет ($p=0.046$, OR=1,051, CI: 1,001 – 1,105), а также снижение шанса обнаружения генотипа STK38L*D/*D у мужчин в возрасте 75 – 84 лет ($p=0.021$, OR=0,839, CI: 0,722 – 0,974). У женщин также было обнаружено снижение вероятности обнаружения генотипа STK38L*D/*D и увеличение шанса обнаружения генотипа STK38L*I/*D в возрасте 20 – 77 лет ($p=0.010$, OR=0,972, CI: 0,952 – 0,993 и $p=0.012$, OR=1,031, CI: 1,007 – 1,056 соответственно) и 80 – 109 лет ($p=0.014$, OR=0,941, CI: 0,897 – 0,988 и $p=0.020$, OR=0,060, CI: 0,009 – 1,114 соответственно). Таким образом, по результатам логистического регрессионного анализа можно предположить, что генотип STK38L*I/*D является протективным фактором, а генотипы STK38L*D/*D и STK38L*I/*I являются рисковыми факторами, по отношению к долголетию человека.

Выражается благодарность научному руководителю д.б.н. Мустафиной О.Е, за неоценимую помощь в организации исследований и интерпретации результатов.

Работа выполнена на базе Института Биохимии и Генетики УНЦ РАН, г. Уфа.

Работа поддержана грантом РФФИ-Поволжье №14-04-97094.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mustafina O. E. The possible roles of human Alu elements in aging. // Front Genet. 2013 May 28;4:96. doi: 10.3389/fgene.2013.00096. eCollection 2013.

2. Хрисанфова Е.Н. Основы геронтологии (Антропологические аспекты). – М.: Владос, 1999. – 151 с.

УДК 575.174.015.3

АНАЛИЗ ВКЛАДА АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОВ СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ НЕЙРОМЕДИАТОРНОЙ СИСТЕМЫ В ФОРМИРОВАНИЕ НЕВЕРБАЛЬНОГО ИНТЕЛЛЕКТА

Л.Р.Садыкова

ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы».

Ключевые слова: интеллект, моноаминоксидаза, переносчик, рецептор, серотонин, триптофангидроксилаза.

Краткая аннотация. Произведен анализ межгенных взаимодействий аллелей генов серотонинового обмена при формировании различных показателей интеллектуального развития. Исследование произведено по полиморфным локусам следующих генов: переносчика серотонина *SLC6A4* (полиморфный локус *5-HTTLRP*), рецептора серотонина *5HTR2C (G68C)*, триптофангидроксилазы-1 *TPH1 (A218C)*, триптофангидроксилазы-2 *TPH2 (G-703T)*, моноаминоксидазы А *MAOA (EcoRV)*. Были получены двух-, трех-, четырех- и пятифакторные модели сочетаний генотипов.

Введение. Одной из наиболее социально значимых характеристик человека являются умственные способности [1]. Интеллектуальный потенциал населения является важнейшим основанием его прогрессивного развития [2]. Обнаружена позитивная корреляция (до 0,5) между коэффициентом интеллекта (IQ) и последующими успехами в образовании, профессиональной деятельности, воспитании детей, социальной жизни [3]. В исследованиях, проведенных сотрудниками кафедры генетики БГПУ им. М. Акмуллы, близнецовым методом показана высокая наследуемость невербальных интеллектуальных способностей ($h^2 = 0,71$). Уже показаны ассоциации уровня невербального интеллекта с такими генами, как

переносчик серотонина *SLC6A4*, моноаминоксидаза А *MAOA*, рецептор серотонина *5HTT2A*, триптофангидроксилаза-1 *TPH1*. Целью исследования явился комплексный анализ вклада аллелей генов серотонинергической нейромедиаторной системы в формирование невербального интеллекта.

Материал и методы исследования. Определение уровня невербального интеллекта проводилось при помощи культурно свободного теста интеллекта Р. Кеттелла [4]. Образцы ДНК (100 чел.) были выделены из периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции [5]. Генотипирование образцов проведено методом ПДРФ-анализа [6] с детекцией при помощи электрофореза в полиакриламидном геле [7], после чего был проведен математический анализ распределения частот генотипов и аллелей при помощи таблицы сопряженности «2x2» и выявления сочетаний генотипов в программе GMDR (Generalized Multifactor-Dimensionality Reduction) [8].

Результаты. Для проведения анализа распределения частот генотипов и аллелей генов СНС, сочетаний генотипов и оценки роли межгенного взаимодействия исследуемая выборка была поделена на две группы: лица с высокими (больше 130 баллов) и низкими (меньше 110 баллов) показателями IQ.

При проведении сравнительного анализа распределения частот генотипов и аллелей полиморфных вариантов генов *SLC6A4* (*5-HTTLPR*), *5HTT2C* (*G68C*), *TPH1* (*A218C*), *TPH2* (*G-703T*), *MAOA* (*EcoRV*) достоверные различия между группами лиц с показателями IQ больше 130 и лиц с показателями IQ меньше 110 баллов были выявлены только по гену *SLC6A4* (полиморфный локус *5-HTTLPR*).

Анализ распределения частот генотипов выявил статистически значимое ($p = 0,0532$; $\chi^2 = 3,7401$) преобладание генотипа *LL гена *SLC6A4* в группе лиц с показателями IQ выше 130 (43,48 %) (табл. 1).

Таблица 1

Распределение частот генотипов гена *SLC6A4* (полиморфный локус *5-HTTLPR*) в группах лиц с разными показателями интеллектуального развития

Выборка	Генотипы (%)			N
	*LL	*LS	*SS	
IQ выше 130	43,48 ± 0,1033	47,83 ± 0,1041	8,70 ± 0,0587	2 3
IQ ниже 110	14,81 ± 0,0683	59,26 ± 0,0945	25,93 ± 0,0843	2 7
χ^2	3,7401	0,2748	1,4676	
p	0,0532	0,6004	0,2266	

Анализ распределения частот аллелей выявил статистически значимое ($p = 0,0362$; $\chi^2 = 4,3987$) преобладание аллеля *L гена *SLC6A4* в группе лиц с показателями IQ выше 130 (67,39 %), а также преобладание аллеля *S в группе лиц с показателями IQ ниже 110 (55,56 %) (табл. 2).

Таблица 2

Распределение частот аллелей гена *SLC6A4* (полиморфный локус 5-*HTTLPR*) в группах лиц с разными показателями интеллектуального развития

Выборка	Аллели (%)		N
	*L	*S	
IQ выше 130	67,39	32,61	23
IQ ниже 110	44,44	55,56	27
χ^2	4,3987		
p	0,0362		

В ходе анализа ассоциаций изученных полиморфных локусов с показателями интеллектуального развития исследуемая выборка была разделена на 2 группы по уровню IQ, а также описаны модели взаимодействия генов серотонинового обмена (*SLC6A4*, *5HTR2C*, *TPH1*, *TPH2*, *MAOA*) с помощью статистического метода GMDR.

Показана статистически значимая пятифакторная модель взаимодействия аллелей ДНК-локусов, приводящих к формированию высоких показателей интеллектуального развития (IQ выше 130 баллов). Полученные данные представлены в таблице 3.

Таблица 3

Характеристика моделей межгенных взаимодействий исследуемых полиморфных ДНК-локусов в зависимости от уровня интеллектуального развития

Модель	Теоретическая точность	Тестируемая точность (Bal. Acc.)	Уровень достоверности (P)	Повторяемость пересчетов
<i>SLC6A4</i>	0,6444	0,5667	8 (0,05447)	8/10
<i>SLC6A4/MAOA</i>	0,8236	0,8167	10 (0,0010)	10/10
<i>SLC6A4/MAOA/5HTR2C</i>	0,8530	0,7083	10 (0,0010)	6/10
<i>SLC6A4/5HTR2C/TPH1/MAOA</i>	0,8761	0,7583	10 (0,0010)	7/10
<i>SLC6A4/5HTR2C/TPH1/MAOA/TPH2</i>	0,8821	NaN	10 (0,0010)	10/10

Для пятифакторной модели к сочетаниям генотипов, определяющим высокие показатели интеллектуального развития, были отнесены 8 различных комбинаций генотипов, из которых наиболее значимой является:

*TPH1**A/*A + *TPH2**T/*G + *5HTR2C**G/*G + *MAOA**A/*C + *SLC6A4**L/*L.

Для пятифакторной модели к сочетаниям генотипов, определяющим показатели интеллектуального развития ниже 110 баллов IQ, были отнесены 8 различных комбинаций генотипов, из которых наиболее значимой является:

$TPH1^*C/^*C + TPH2^*G/^*G + 5HTR2C^*G/^*C + MAOA^*C/^*C + SLC6A4^*S/^*S.$

В ходе GMDR-анализа также был выявлен уровень вклада аллелей генов *SLC6A4* (8,96%), *MAOA* (2,62%) и *5HTR2C* (2,16%) в формирование признака «интеллект». Была произведена оценка степени межгенных взаимодействий, в ходе чего было показано наиболее сильное взаимодействие аллелей генов *MAOA* и *SLC6A4* (21,34%) (рис. 1).

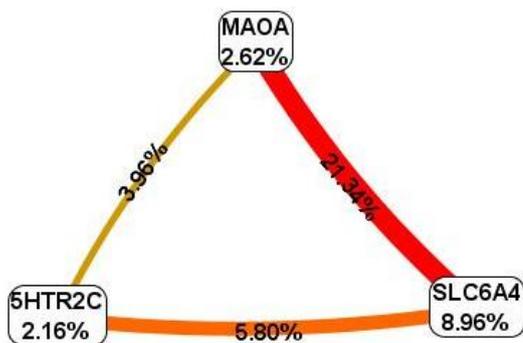


Рис. 1. Графическое изображение результатов анализа взаимодействий между генами при формировании высоких показателей интеллектуального развития: на вершинах пиктограммы представлена информационная ценность каждого маркера, на ребрах – взаимодействия пары генов.

Обсуждение. Анализ распределения частот генотипов и аллелей гена *SLC6A4* в группах лиц с различными показателями интеллектуального развития. Носительство аллеля **S* (полиморфный локус *5-HTTLPR*) свидетельствует о наличии делеции в промоторной области гена *SLC6A4*, содержащей короткие повторы. Наличие данной делеции обуславливает снижение уровня транскрипции гена и, как следствие, недостаток белка-переносчика серотонина *SLC6A4* в пресинаптических мембранах нейронов. Недостаток белка *SLC6A4* в синапсах отражается на скорости передачи нервных импульсов, замедляя ее. В связи с этим, большинство индивидов с показателями IQ ниже 110 являются носителями аллеля **S* гена *SLC6A4*.

Анализ межгенных взаимодействий при формировании высоких показателей интеллектуального развития. Комбинация генотипов $TPH1^*A/^*A + TPH2^*T/^*G + 5HTR2C^*G/^*G + MAOA^*A/^*C + SLC6A4^*L/^*L$ показывает отсутствие гомозиготных генотипов по полиморфным локусам исследуемых генов, что свидетельствует об отсутствии вклада данных полиморфных локусов в формирование высоких показателей интеллектуального развития. Это объясняется тем, наличие «неполиморфных» аллелей исследуемых генов обуславливает более быструю и точную синаптическую передачу нервных импульсов, что играет роль в формировании интеллекта.

Анализ межгенных взаимодействий при формировании низких показателей интеллектуального развития. Комбинация генотипов $TPH1^*C/^*C + TPH2^*G/^*G + 5HTR2C^*G/^*C + MAOA^*C/^*C + SLC6A4^*S/^*S$ показывает наличие гомозиготных генотипов по полиморфным локусам всех исследуемых генов, за исключением *5HTR2C* (*G68C*). Это свидетельствует о наличии вклада полиморфных локусов данных генов в формирование низких

показателей интеллектуального развития, что обусловлено общим снижением скорости и точности синаптической передачи нервных импульсов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Равич-Щербо И.В., Марютина Т.М., Григоренко Е.Л. Психогенетика. Учебник/ Под ред. Равич-Щербо И.В. – М.; Аспект Пресс, 2000 – 447 с.
2. Холодная М.А. Психология интеллекта: парадоксы исследования. М.; Томск, 1997 – 272 с.
3. Александров А.А. Психогенетика. Учебное пособие. — СПб.: Питер, 2010. — 192 с.
4. Денисов А. Ф., Дорофеев Е. Д. Культурно свободный тест интеллекта Р. Кеттелла (Руководство по использованию). – СПб.: Иматон, 1996. – 17 с.
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. Langdahl B.L., Ralston S.H., Grant S.F., et al. An Spl 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. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование (Методы генетической инженерии). М. «Мир».1984. С. 220-228.
8. 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.

УДК 51

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ПОЛИМОРФНОГО МАРКЕРА *rs 274622* ГЕНА *GRM3* В РАЗВИТИИ ШИЗОФРЕНИИ У РАЗЛИЧНЫХ ЭТНИЧЕСКИХ ГРУПП ИЗ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

Шарафутдинова Д.Р.

ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы»

К.О. Киняшева, А.Э. Гареева, Э. К. Хуснутдинова

ФГБУН «ИБГ УНЦ РАН»

Шизофрения – психическое заболевание, характеризующееся дисгармоничностью и утратой единства психических функций (мышления, эмоций, моторики), длительным непрерывным или приступообразным течением и разной выраженностью продуктивных (позитивных) и негативных расстройств, приводящих к изменениям личности в виде аутизма, снижения энергетического потенциала, эмоционального обеднения и нарастающей инвертированности (распространённость в мире составляет 1%)

[1]. На сегодняшний день генетические и молекулярные основы глутаматергической дисфункции являются одной из ключевых для понимания шизофрении. Метаботропные рецепторы глутамата третьего типа (GRM3), расположенные на периферии пре- и пост-синаптических нейронов, принимают непосредственное участие в передаче сигналов глутамата в головном мозге, поэтому структурно-функциональные изменения рецептора GRM3 способны приводить к патофизиологическому состоянию глутаматергической системы [2]. Согласно литературным данным, существует ассоциация полиморфного локуса гена GRM3, расположенного в локусе 7q21.1 - q21.2, с развитием шизофрении, алкоголизма и маниакально-депрессивного психоза.

Целью данного исследования явилось изучение роли полиморфного варианта rs274622 гена GRM3 в развитии шизофрении в этнических группах русских и татар из Республики Башкортостан. В исследовании приняли участие 150 индивидов, больных параноидной шизофренией (50% русских и 50% татар), и 150 здоровых индивидов (50% русские и 50% татар), соответствующих по возрасту и полу выборке больных. С каждого испытуемого было получено подписанное информированное согласие. Изучение данных полиморфных локусов проводили методом ПЦР-ПДФ-анализа. Показатель относительного риска (OR) и соответствующий 95 % – ный доверительный интервал рассчитывали в программе SISA Tables. Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса гена GRM3 в изученных группах соответствовало распределению Харди-Вайнберга.

В результате проведенного исследования обнаружено, что генотип *GRM3* * T / * T полиморфного локуса rs274622 гена GRM3 является маркером риска развития шизофрении в татарской этнической группе (OR = 1,36; P = 0,36). При анализе распределения частот аллелей и генотипов данного локуса в группах «больные-контроль» русской этнической группы достоверные различия не обнаружены

ЛИТЕРАТУРА

1. Т.1/А.С.Тиганов, Р 84 А.В.Снежневский, Д.Д.Орловская и др.; Руководство по психиатрии. В 2 томах. Том 1. М.: Медицина, 1999. — 712 с: ил., [2] л. с.407.
2. Wei Jia, Rui Zhang, Bin Wu et al. // Metabotropic glutamate receptor 3 is associated with heroin dependence but not depression or schizophrenia in a chinese population. PLoS Onev. 2014. 9(1). P. 110- 123.

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ПОЛИМОРФНОГО ВАРИАНТА ГЕНА МИОЗИНА ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ

Э.И.Юсупова, Е.В.Воробьева
ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы», г.Уфа

Ключевые слова: физическая работоспособность, ген, полиморфизм, коэффициент выносливости (КВ), экономичность кровообращения (КЭК), вегетативный индекс Кердо (ВИК).

Введение. При формировании физической работоспособности организм требует внимания, так как вызывает излишнее перенапряжение его систем и может привести к тяжелым заболеваниям, особенно при наличии скрытой наследственной предрасположенности. Большое внимание ученых направлено на сердечно - сосудистые заболевания, которые обусловлены высокой распространенностью [1]. Одна из таких заболеваний - гипертрофическая кардиомиопатия. Функционирование сердечно - сосудистой системы находится под строгим контролем гена: *MYH7*. Ген *MYH7* локализован на 14 хромосоме в позиции 14q12. Белковый продукт имеет длину 1935 аминокислот.

Целью данного исследования явилось изучение роли полиморфного варианта *rs3219474* гена *MYH7* при формировании физической работоспособности.

Материалы и методы исследования. Материалом исследования послужили образцы ДНК. Выделение ДНК из лейкоцитов венозной крови исследуемых проводилось методом фенольно-хлороформной экстракции [2]. В исследовании приняли участие 60 студентов 3–5 курсов БГПУ им. М. Акмуллы, с каждого испытуемого было получено подписанное информированное согласие. Изучение данных полиморфных локусов проводили методом ПЦР-ПДРФ- анализа. Для оценки ССС к выполнению физической нагрузки использовались такие показатели, как коэффициент выносливости (КВ), экономичность кровообращения (КЭК), вегетативный индекс Кердо (ВИК). Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы «2x2». Анализ частот аллелей и генотипов проводили с применением критерия χ^2 и Фишера. Различия считались достоверными при $p < 0,005$.

Результаты и обсуждения. Исследуемая выборка разделена на группы по физиологическим показателям (КВ, ВИК, КЭК). Полученные группы разделены на следующие:

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

В группе лиц с увеличением значений выявлено два аллеля – *MYH7*А*, *MYH7*G* и три генотипа: **А/А*, **А/*G* и **G/*G*. В группе лиц с уменьшением значений выявлено два аллеля соответственно, и три генотипа: **А/А*, **А/*G* и **G/*G*. При попарном сравнении частот генотипов и аллелей в вышеназванных группах достоверных различий выявлено не было.

ЛИТЕРАТУРА

1. 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.
2. 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.

УДК 575.22

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ГЕНА АДИПОНЕКТИНА (*ADIPOQ*) ПРИ ДИСЛИПИДЕМИИ

И. И. Яхина, Р. В. Мулюкова, В.Ю. Горбунова
ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Ключевые слова: дислипидемия, single-nucleotide polymorphism, адипонектин, ген *ADIPOQ*.

Аннотация. В настоящее время ученые проявляют наибольший интерес к нарушениям липидного обмена (дислипидемии) в организме человека. В связи с этим интенсивно изучается функционирование жировой ткани – одной из особенных разновидностей соединительной ткани. Дислипидемия имеет широкий спектр нарушений, которые могут привести к ряду заболеваний: ожирение, сахарный диабет, ишемия, атеросклероз. Исследована связь однонуклеотидного полиморфизма *rs2241766* гена адипонектина (*ADIPOQ*) с нарушением липидного обмена.

Введение. Дислипидемия – один из основных признаков метаболического синдрома (МС). Характеризуется нарушением липидного обмена, развитием атеросклероза, нарушением кровоснабжения органов. Причины дислипидемии: наследственные предрасположенности к заболеваниям сердечно-сосудистой системы (ССС) и неблагоприятные факторы окружающей среды: малоподвижный образ жизни, грубые нарушения диеты и питания, курение и злоупотребление алкогольными напитками, артериальная гипертензия (АГ), абдоминальный тип ожирения, инсульт, атеросклероз, ИБС. Важными компонентами МС являются

ожирение, абдоминальный тип распределения жировой ткани (ЖТ), нарушения углеводного обмена и дислипидемии [11; 13].

Основными показателями липидного обмена служат общий холестерин (ОХС), липопротеины высокой плотности (ЛПВП), липопротеины низкой плотности (ЛПНП), липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП), триглицериды (ТГ), индекс атерогенности (ИА) [18].

При развитии дислипидемии большую роль играет ЖТ, представляющая собой сложный гормонально активный орган, имеющий важное значение в регуляции энергетического баланса и гомеостаза всего организма в целом [5].

Функциональная роль ЖТ заключается в основном в накоплении жира, поддержании оптимальной температуры тела, сохранении энергетического запаса и запаса триацилглицеридов. ЖТ защищает от механических сотрясений и травм внутренних органов, скелета, оказывает влияние на функцию органов, выделяет в кровь вещества: гормоны, жирорастворимые витамины, белки, жирные кислоты и т. д. [5].

ЖТ бывает трех типов: белая, бурая и смешанная. Функции бурой ЖТ: теплоизоляция, рассеивание избытка потребляемой с пищей энергии. По мере взросления ее количество снижается, располагается она только в определенных участках тела: между лопатками, на грудной клетке, около почек, щитовидной железы [2].

Основная функция белой ЖТ – это участие в контроле процесса запасания триглицерида (ТГ) и высвобождения неэтерифицированных сложных жирных кислот (СЖК). В белой ЖТ синтезируется большое количество сигнальных веществ: лептин, интерлейкины, фактор некроза опухоли- α , белок-переносчик эфира холестерина, адипонектин, ангиотензин 11, ингибитор активатора пламиногена 1. Смешанная ЖТ имеется в области грудной клетки, плеч, состоит как из белой, так и из бурой ЖТ [2].

Белая и бурая ЖТ взаимосвязаны. Белая ЖТ сохраняет излишки энергии, а бурая активно ее сжигает, превращая в тепло, тем самым поддерживают энергетический баланс в организме, которое поддерживается на генетическом уровне. Нарушение генетической регуляции энергетического баланса между потреблением и расходом энергии приводит к ожирению [3].

Ожирение – это хроническое рецидивирующее многофакторное заболевание, характеризующееся накоплением ЖТ в организме. Оно вызывает целый ряд серьезных ассоциированных заболеваний: МС, СД 2-го типа, дислипидемия, подагра, сердечно сосудистые заболевания (ССЗ), желудочно-кишечные патологии, нарушения репродуктивной функции, патологии дыхательной системы [3].

Основными биомаркерами ожирения являются лептин и адипонектин. Лептин – нейрогормональный медиатор, который продуцируется

адипоцитами ЖТ. Уровень содержания лептина в сыворотке крови при ожирении увеличивается в то время, как адипонектина - снижается [4].

Адипонектин – адипокин, т. е. белок ЖТ, экспрессия и секреция которого изменяется при патологии (ожирение, абдоминальный тип распределения ЖТ). Он регулирует важные метаболические и катаболические процессы, оказывает влияние на углеводный и липидный обмены; снижает содержание жирных кислот и их поступление в печень, стимулируя 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 ССЗ; предотвращает развитие деменции (слабоумия); поддерживает энергетический гомеостаз; улучшает чувствительность к инсулину; ингибирует атеросклеротические процессы [3;13].

Молекула белка адипонектина состоит из 244 аминокислот. Представлена четырьмя доменами: N-концевой сигнальный, гипервариабельный, коллагеноподобный, глобулярный. Секретируется из эндоплазматического ретикулума (ЭПР) под контролем ERp44 (ER protein of 44 kDa, белок ЭПР массой 44 кДа) и Ero1-L α , а освобождение из ЭПР происходит при участии белка GGA1 (Golgi-associated γ -adaptin ear homology domain Arf (ADP-ribosylation factor)-increasing protein1) [8].

Адипонектин является продуктом гена *ADIPOQ*, который локализован на длинном плече третьей хромосомы – 3q27. Этот ген состоит из 4592 п. о., включающий в себя три экзона и два интрона, экспрессируется в адипозной ткани [7].

Связь между геном *ADIPOQ* и метаболизмом изучается при помощи полиморфизмов гена (более десяти). Широко изучаются однонуклеотидные полиморфизмы (SNP – single nucleotide polymorphism), характеризующиеся наличием в гене мутации по типу транзиции или трансверсии [1].

Наиболее популярные полиморфизмы: *g.-11391G→A (rs17300539)* и *g.-11377C→G (rs266729)*, находятся в области промотора, а полиморфизмы *rs1501299 (g.+276G→T)* и *rs2241766 (g.+45T→G)* располагаются в структурной зоне гена [7].

SNP *+45T→G* локализован в экзоне 2 и представляет собой трансверсию, т. е. замена Т на G в 45 локусе. В результате возникает молчащая мутация Gly15 (GGT на GGG), что приводит к инактивации гена или же влияет на концентрацию адипонектина, изменяя сплайсинг пре-м-РНК, стабильность м-РНК [7].

Полиморфизм *rs2241766* ассоциирован с СД 2-го типа, ожирением и МС, также возможна связь с раком молочной железы. По литературным данным можно указать генотипы этого полиморфного варианта: генотип G/G характеризуется понижением уровня адипонектина, увеличением ИМТ,

повышением уровня липидов в кровеносных сосудах, гипергликемией, риском ожирения; генотип G/T – избыточной массой тела, генотип T/T – нормальным распределением ЖТ в организме [14; 17].

Развитие дислипидемии регулируют связь 5 генов: лептина – *LEP* и его рецептора – *LEPR*, липопротеинлипазы – *LPL*, адипонектина – *ADIPOQ*, белок, связывающий жирные кислоты – *FABP2* [19].

Целью данной работы является исследование генетической структуры популяции детей г. Белорецка по полиморфному варианту *rs2241766* гена *ADIPOQ*. Были поставлены следующие задачи: сравнение частот генотипов и аллелей полиморфизма *rs2241766* гена *ADIPOQ* в группах с низким, высоким, нормальным уровнем ОХС и ТГ в сыворотке крови.

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.

Выборка состояла из мальчиков (71) и девочек (119). 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. 1).

Таблица 1

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

Показатель	Концентрация (уровень)		
	низкий уровень, ммоль/л, (n)	высокий уровень, ммоль/л, (n)	уровень в пределах физиологической нормы, ммоль/л, (n)
ОХС	до 3,08 (18)	больше 5,1 (36)	3,08-5,1 (136)
ТГ	до 0,45 (12)	больше 1,81 (19)	0,45-1,81 (159)

Методы исследования

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) [10; 15; 16].

Статистическая обработка данных: закон Харди-Вайнберга, метод χ^2 , метод 2x2 [9].

Биоинформатические методы: Для моделирования молекулы белка адипонектина использовалась биоинформатическая программа «SWISS-MODEL» в режиме онлайн моделирования (<http://swissmodel.expasy.org/>). Результат – 3D модель искомой белковой молекулы.

По программе «GeneMania» анализировались графы белок-белкового взаимодействия. Это позволяет увидеть метаболический путь белка гена *ADIPOQ* и его связь с другими белками [19].

Результаты и обсуждение

Молекулярно-генетический анализ полиморфизма *rs2241766* гена *ADIPOQ* показал наличие в выборке из 190 детей двух аллелей (*Т и *G) и трех генотипов (ТТ, ТG, GG). Выборка состояла из детей с низкими, высокими и нормальными показателями липидного обмена.

С помощью статистической обработки данных был произведен анализ распределения частот генотипов и аллелей по показателям липидного обмена: ОХС и ТГ. Для каждого показателя проводились отдельные расчеты с распределением по Харди-Вайнбергу для групп мальчиков и девочек с низким, высоким уровнем ОХС и ТГ.

При сравнении частот генотипов полиморфизма *rs2241766* гена *ADIPOQ* у девочек и мальчиков с высоким уровнем ОХС выявлены достоверные различия ($p=0,0094$).

Показано, что генотип ТТ чаще встречается у девочек – 87,5 %, чем у мальчиков – 75%. Это результат того, что в выборку вошли 3 мальчика из 9 с генотипом ТТ с высоким уровнем ТГ, что составляет 33,3 % и 1 из 9 (11,1 %) с низким уровнем ЛПВП, функции которого выявлены в уничтожении ЛПНП, которые откладываются на стенках кровеносных сосудов, предотвращая ССЗ). Понижение концентрации ЛПВП свидетельствует о повышении концентрации ЛПНП. Именно с этими показателями сочетается высокий уровень ТГ в результате чего возникает нарушение липидного обмена, ожирение.

Среди 21 девочек с генотипом ТТ наблюдается 6 с высоким уровнем ТГ (28,7 %) и у 1 из 6 имеется низкий уровень ЛПВП (4,8 %). Они генетически не предрасположены к дислипидемии, но у них есть признаки нарушения липидного обмена, что наиболее выражены у мальчиков в этой выборке.

Генотип ТG встречается редко: с частотой 25 % у мальчиков, у девочек – 8,33%.

Генотип GG наблюдается только у девочек с частотой 4,17 %. У них не выявлены нарушения в показателях липидного обмена: ТГ, ЛПНП, ЛПВП, но имеется предрасположенность к ожирению, т. к. произошла замена Т на G в 45 положении гена *ADIPOQ* и у нее имеется высокий уровень ОХС.

При сравнении частот аллелей выявлены достоверные различия ($p=0,0007$). Аллель *Т преобладает у девочек (91,67%), а *G (мутантный аллель) у мальчиков – 12,5 % (табл. 2).

Таблица 2

**Распределения частот генотипов и аллелей полиморфного варианта
rs2241766 гена *ADIPOQ* мальчиков и девочек с высоким уровнем ОХС
(больше 5,1 ммоль/л)**

ДНК- локус	Генотипы / аллели	Мальчики		Девочки		p(χ^2)
		N	p, %	N	p, %	
<i>ADIPOQ</i> rs2241766	TT	9	75	21	87,5	0,0094 (6,9147)
	TG	3	25	2	8,33	1,0005 (0,0005)
	GG	0	0	1	4,17	1,0005 (0,0005)
	*T	21	87,5	44	91,67	0,0007 (14,8928)
	*G	3	12,5	4	8,33	1,0005 (0,0005)

Сравнение частот генотипов и аллелей полиморфизма *rs2241766* гена *ADIPOQ* девочек и мальчиков с пониженным уровнем ОХС, наблюдаются недостоверные различия. Имеется только аллель *Т и генотип ТТ. Можно сделать вывод о косвенном взаимодействии низкого уровня ОХС с протективным аллелем *Т, что свидетельствует о повышенном уровне адипонектина в крови (табл. 3).

Таблица 3

**Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного варианта
rs2241766 гена *ADIPOQ* у мальчиков и девочек с низким уровнем ОХС
(меньше 3,08 ммоль/л)**

ДНК- локус	Генотипы / Аллели	Мальчики		Девочки		p(χ^2)
		N	p, %	N	p, %	
<i>ADIPOQ</i> rs2241766	TT	10	100	8	100	0,7391 (0,1116)
	TG	0	0	0	0	0
	GG	0	0	0	0	0
	*T	20	100	16	100	0,4798 (0,5005)
	*G	0	0	0	0	0

Сравнение частот генотипов и аллелей полиморфизма *rs2241766* гена *ADIPOQ* девочек и мальчиков с низким уровнем ТГ в сыворотке крови показало недостоверные различия (табл. 4). Наблюдается, что генотип ТТ преобладает в обеих группах (100% у мальчиков, 83,33 % у девочек). Генотип TG встречается у девочек с частотой 16,87 %.

При сравнении аллелей у мальчиков наблюдается только протективный аллель. У девочек аллель *Т составляет 91,67 %, а мутантный *G аллель встречается с частотой равной 8,33 % (табл. 4).

Таблица 4

Распределения частот генотипов и аллелей полиморфного варианта rs2241766 гена ADIPOQ мальчиков и девочек с низким уровнем ТГ (меньше 0,45 ммоль/л)

ДНК-локус	Генотипы / аллели	Мальчики		Девочки		p(χ^2)
		N	p, %	n	p, %	
<i>ADIPOQ</i> <i>rs2241766</i>	TT	6	100	5	83,33	1,0005 (0,0005)
	TG	0	0	1	16,87	1,0005 (0,0005)
	GG	0	0	0	0	0
	*T	12	100	11	91,67	1,0005 (0,0005)
	*G	0	0	1	8,33	1,0005 (0,0005)

При сравнении частот и генотипов полиморфизма *rs2241766* гена *ADIPOQ* девочек и мальчиков с высоким уровнем ТГ выявлены недостоверные различия. Наблюдается повышенные частоты генотипа TT (62,5 % у мальчиков, 81,25 % у девочек). Наиболее редко встречается генотип TG (37,5% - мальчики, 9,09 % – девочки). GG встречается только у девочек – 9,09 %. Аллель *T преобладает у девочек – 86,36 %, а аллель *G у мальчиков – 18,75 % (табл. 5).

Таблица 5

Распределения частот генотипов и аллелей полиморфного варианта rs2241766 гена ADIPOQ мальчиков и девочек высоким уровнем ТГ (больше 1,81 ммоль/л)

ДНК-локус	Генотипы / аллели	Мальчики		Девочки		p(χ^2)
		N	p, %	n	p, %	
<i>ADIPOQ</i> <i>rs2241766</i>	TT	5	62,5	9	81,82	0,3139 (1,0183)
	TG	3	37,5	1	9,09	0,5971 (0,2799)
	GG	0	0	1	9,09	1,0005 (0,0005)
	*T	13	81,25	19	86,36	0,2121 (1,5630)
	*G	3	18,75	3	13,64	1,0005 (0,0005)

Таким образом, исследование генетической структуры распределения полиморфного варианта среди детей г. Белоречка имеет тенденцию повышения частоты протективного аллеля *T. Его частота снижается в группах с высокими показателями по сравнению с низкими значениями липидного обмена. Низкие концентрации показателей липидного обмена не приводят к ожирению, т. к. уровень адипонектина в крови повышен.

Мутантный аллель *G в группе с высокими показателями липидного обмена свидетельствует о понижении уровня адипонектина в крови, что

приводит к вероятной возможности развития дислипидемии и ожирения в этой выборке.

ЛИТЕРАТУРА

1. Атраментова, Л. А. Однонуклеотидный полиморфизм +276 G→T гена адипонектина (APM1) у доноров Харькова// Л. А. Атраментова, В. В. Полторац, Т. В. Тыжненко, М. Ю. Горшунская, А. К. Почерняев// журнал «Цитология и генетика». – 2010. – № 6. – с. 40-43.
2. Бернштейн Л. М. Эндокринная функция жировой ткани, или как Вас теперь называть, мистер Ж.?// Л. М. Бернштейн// журнал «Природа». – 2005. - № 3
3. Бурко, И. Проблемы лишнего веса: развитие ожирения и подходы к его лечению// И. Бурко// научно-парктический журнал «Наука и инновации». – 2013. - № 10 (128). – с. 4-7.
4. Бутыгина, В. Л. Адипонектин и лептин в сыворотке крови крупновесных новорожденных детей с различной прибавкой массы тела в первый месяц жизни [Электронный ресурс]/ В. Л. Бутыгина, А. В. Солнцева, А. В. Сукало, А. Н. Горячко. – Режим доступа: https://www.google.ru/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&ved=0CCcQFjAC&url=http%3A%2F%2Fwww.bsmu.by%2Ffiles%2Fde553ff7d54691c029a2209ee7d93750%2F&ei=rhjuVI21K43VaqaIgpAJ&usq=AFQjCNE7aejaCRSLYFdi8GYr9iIQ950ksw&sig2=pKqUOfIq0nfPDF_WrjFmkg&bvm=bv.87269000,d.d2s
5. Дедов И. И. Жировая ткань как эндокринный орган// И. И. Дедов, С. А. Мельниченко, С. А. Бутрова// журнал «Ожирение и метаболизм», научная статья по специальности «Медицина и здравоохранение». – 2006. – №1. – с. 6-13.
6. Жимулев, В. В. Общая и молекулярная генетика: Учеб. пособие. – 2-е изд., испр. и доп. – Новосибирск: Сиб. Унив. Изд-во, 2003. – 479 с. – ISBN 5-94087-077-5.
7. Караченцев, Ю. И. Клиническая эндокринология. Значение однонуклеотидных полиморфизмов +45T/G гена адипонектина (ADIPOQ) в формировании риска сахарного диабета второго типа// Ю. И. Караченцев, М. Ю. Горшунская, Л. А. Атраментова, Н. А. Кравчун, О. О. Хижняк, Т. В. Тыжненко, Т. С. Гринченко, А. И. Гладких, Ж. А. Лещенко, Ю. А. Шевченко, А. К. Почерняев, И. П. Романова, В. В. Полторац// журнал «Проблемы эндокринной патологии».- 2010.- № 4. – с. 5-12.
8. 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.
9. Лакин, Г. Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. Вузов – 4-е изд., перераб. И доп. – М.: Высш. шк., 1990.-532.: ил. ISBN 5-06-000471-6.

10. Маниатис, Т. Молекулярное клонирование (Методы генетической инженерии)/ Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук/- М.: Мир, 1984. С. 220-228.
 11. Нарышкина, С. В. Дислипидемия// С. В. Нарышкина, О. П. Коротич//Учеб. пособие. – 2006. с. 3-75.
 12. 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.
 13. 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.
 14. 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.
 15. 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.
 16. 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.
 17. Reddy, M. N. Association of Adiponectin Gene Functional Polymorphisms (+45T/G and +276 G/T) with Obese Breast Cancer// M. N. Reddy, K. Kumar. K. Jamil// Molecular Biomarkers & Diagnosis. - 2012. – № 3. – p. 2-6.
 18. 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.rpccardio.ru/upload/archive/pdf_articles/2012/RFK_2012-1-recomend.pdf
- Warde-Farley, D. The GeneMANIA prediction server: biological network integration for gene prioritization and predicting gene function// D. Warde-Farley, S.L. Donaldson, O. Comes, K. Zuberi, R. Badrawi, P. Chao, M. Franz, C. Grouios, F. Kazi, C.T. Lopes, A. Maitland, S. Mostafavi, J. Montojo, Q. Shao, G. Wright, G.D. Bader, Q Morris// Nucleic Acids Res. – 2010. – № 38.

«День ДНК - 2015»

труды
научной конференции
студентов, аспирантов и молодых ученых

Лиц. на издат. деят. Б848421 от 03.11.2000 г. Подписано в печать 15.05.2015.

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