2. *Ornstein K., Barbour A. G.* A reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay of Borrelia burgdorferi 16S rRNA for highly sensitive quantification of pathogen load in a vector // Vector Borne Zoonotic Dis. 2006. V. 6, № 1. P. 103–112.

DIFFERENTIATION OF BORRELIA SPECIES BY REAL-TIME PCR

T. A. Mukhacheva, Zh. M. Koroleva
Ural federal university, Yekaterinburg

Summary. In Russia, Lyme disease caused mainly by *Borrelia afzelii, B. garinii* and possibly *B.miyamotoi* is of high clinical and scientific importance. In order to estimate the prevalence of these Borrelia species in ticks, animal tissue and clinical material, a new genotyping approach based on Real-Time PCR was developed. No false-positive results were obtained with primers and probes used. The percent of non-typing samples was 7,28 %. To test the new approach, 151 samples from Arkhangel'sk, Perm and Sverdlovsk regions were investigated. The percent of mixed infections reached 38–44 %. Surprisingly high prevalence of *B.miyamotoi* was observed, especially in Sverdlovsk region (39 %). No tick infected with only *B.miyamotoi* was detected.

Исследование проведено при финансовой поддержке конкурса грантовмолодых ученых в рамках реализации программы развития УрФУ.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРОЯДЕРНОГО ТЕСТА ДЛЯ ОЦЕНКИ ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ РАДОНА НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

М. Ю. Синицкий

Кемеровский государственный университет, Кемерово

max-sinitsky@rambler.ru

Проблема оценки биомедицинских последствий длительного воздействия малых доз ионизирующих излучений остается наиболее сложной, имеющей не только радиобиологическое, но и социально-экономическое значение. Установлено, что более 60 % дозы ионизирующего облучения на человека в год приходится на естественные природные источники излучения, при этом более 50 % облучения от природных источников обусловлено радоном и продуктами его распада.

© Синицкий М. Ю., 2012

Особенный интерес представляет оценка последствий облучения населения радоноопасных территорий в районах с развитой горнодобывающей индустрией. Кемеровская область относится к числу таких территорий РФ. Часть населения, проживающая в зоне непосредственного проведения горнодобывающих работ, может быть подвержена постоянному радиационному риску облучения радоном и продуктами его распада [1].

Среди цитогенетических методов, используемых для определения степени генотоксического воздействия на организм, более предпочтительным считается микроядерный тест, т. к. он более прост в выполнении, обладает относительно низкой стоимостью и позволяет быстрее получить результаты. Кроме этого, из одного и того же исследования может быть получена информация не только о наличии различных повреждений, но и о таких клеточных событиях, как скорость митотического цикла, гибель клеток путем апоптоза и некроза [2].

МЯ экспрессируются в делящихся клетках из хромосом, лишенных центромер (ацентрические фрагменты), и/или из целых хромосом, неспособных к перемещению во время митоза. В телофазе вокруг хромосом и фрагментов начинает формироваться ядерная оболочка, которая мало-помалу принимает форму, характерную для интерфазного ядра, с исключением структур, меньших по размеру, чем основное ядро. Данные структуры и называются «микроядра». По этой причине МЯ служат удобным маркером обоих типов хромосомных повреждений [3].

Материалом исследований послужила кровь 60 детей-подростков в возрасте 8–17 лет, длительное время компактно проживающих в школе-интернате, расположенной на территории Таштагольского района Кемеровской области. Замеры уровня радона в учебных и жилых помещениях школы-интерната (2011 г.) показали, что данный показатель здесь имеет сверхнормативные значения (300,3 Бк/м^3).

В качестве контроля была использована кровь детей, проживающих в селе Зарубино Крапивинского района Кемеровской области. Данная территория характеризуется отсутствием химических загрязнителей и низким уровнем радона (118,7 Бк/м^3).

В ходе анализа в каждом образце сначала проводился подсчет 500 клеток и определялся их спектр, а также рассчитывалась скорость пролиферации. Для оценки скорости пролиферации клеток международным протоколом предусмотрен такой показатель, как индекс пролиферации.

В нашем опыте расчет медианы индекса пролиферации экспонируемой группы показал превышение данного показателя по сравнению с базисной контрольной группой (2,04 и 1,97 соответственно), причем

превышение носило достоверный характер. Можно предположить, что в нашем опыте ускорение пролиферации носит компенсаторный характер и выполняет функцию противодействия генотоксическому воздействию радона.

Следующим этапом исследования стал подсчет только двуядерных лимфоцитов, прошедших одно деления митоза, и учет в них маркеров, свидетельствующих о наличии повреждений ДНК. Именно анализ повреждений в двуядерных клетках относится к ключевым и наиболее распространенным в эколого-генетических исследованиях.

В наших исследованиях при подсчете 1000 клеток отмечалось количество микроядер, нуклеоплазменных мостов и протрузий («ядерных почек»).

В контрольной группе было отмечено превышение по частоте клеток с протрузиями (1,23 против 0,79), различий по частоте клеток с нуклеоплазменными мостами выявлено не было.

Ключевой характеристикой, позволяющей сделать вывод о степени повреждения ДНК в результате воздействия на организм различных генотоксикантов, в том числе и радона, является частота клеток с микроядрами. Медиана данного показателя в экспонируемой группе составила 0,6 % клеток с микроядрами на 1000 клеток (с разбросом значений от 0,3 до 1,3), а в контроле — 0,3 клетки с микроядрами на 1000 клеток (разброс составил 0–0,7). Этот показатель также носит достоверный характер при $p < 0,001$.

Помимо учета двуядерных клеток в мы в нашем опыте анализировали повреждения в полиядерных клетках, содержащих более двух ядер. Данные клетки обладают ускоренной пролиферацией и успевают пройти более одного деления митоза после стимуляции митогеном (ФГА). В научной литературе практически не встречается данных об анализе повреждений в данных клетках, и не до конца ясны закономерности их накопления. Очевидно, что с увеличением числа митотических делений повышается вероятность возникновения каких-либо генетических повреждений. Таким образом, анализ нарушений в полиядерных клетках может позволить оценить скорость накопления повреждений ДНК и обнаружить повреждения, которые не реализуются за одно митотическое деление.

Как в контрольной, так и в экспонируемой группе наблюдается следующая закономерность: большую часть пула составляют четырехъядерные клетки, количество трех- и пятиядерных клеток практически одинаковое, меньше всего — семи- и восьмиядерных клеток.

Во всех полиядерных клетках нами учитывалась частота клеток с МЯ, а также было проведено сравнение полученных результатов с результатами классического анализа в двуядерных лимфоцитах.

В экспонируемой группе (Таштагол) наблюдалось превышение частоты МЯ в трех-, четырех-, пяти- и шестиядерных лимфоцитах по сравнению с контролем. Кроме этого, было отмечено превышение по общему количеству клеток с МЯ (1,43 % против 1,13 %), причем это превышение носило достоверный характер при $p < 0{,}01$ ($p = 0{,}006$). Также было отмечено повышение частоты МЯ с увеличением количества ядер в лимфоцитах.

Как видно из полученных результатов, по частоте МЯ в полиядерных клетках наблюдается такая же закономерность, как и в двуядерных, с увеличением общего уровня клеток с данным типом повреждений.

В результате проделанной работы нами было сделано следующее заключение: ДНК людей, длительное время проживающих в условиях повышенных концентраций радона, подвергается существенному генотоксическому воздействию. Это выражается в повышении частоты специализированных маркеров — микроядер, экспрессирующихся в двуядерных лимфоцитах периферической крови (0,6 % клеток с МЯ в экспонируемой группе против 0,3 % в контроле, $p < 0{,}001$), а также микроядер, отмечаемых в клетках, которые прошли больше одного митоза с начала культивирования. Кроме этого, в экспонируемой группе также было отмечено достоверное превышение общего количества клеток с микроядрами. Микроядерный тест — удобный цитогенетический метод и может быть использован в биомониторинговых исследованиях.

Литература

1. *Дружинин В. Г., Ахматьянова В. Р., Головина Т. А. и др.* Чувствительность генома и особенности проявления генотоксических эффектов у детей-подростков, подвергающихся воздействию радона в учебных и жилых помещения школы-интерната // Радиационная биология. Радиоэкология. 2009. Т. 49, № 5. С. 568–573.

2. *Ингель Ф. И.* Перспективы использования микроядерного теста на лимфоцитах крови человека, культивируемых в условиях цитокинетического блока // Экологическая генетика. 2003. Том IV, № 3. С. 7–9.

3. *Vral A., Fenech M., Thierens H.* The micronucleus assay as a biological dosimeter of in vivo ionising radiation exposure // Mutagenesis. 2011. Vol. 26, № 1. P. 11–17.

PERSPECTIVES THE USE OF CYTOKINESIS-BLOCKED MICRONUCLEUS ASSAY TO ASSESS THE GENOTOXIC EFFECTS OF RADON ON THE HUMAN BODY

M. Yu. Sinitsky
Kemerovo State University, Kemerovo

Summary. We evaluated the extent DNA damage in people living in high radon concentrations. These people have been increasing special markers — micronuclei — in lymphocytes.

ПЦР-АНАЛИЗ АЛЛЕЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ *WX*-ЛОКУСОВ В ГЕНОТИПАХ СЕЛЕКЦИОННЫХ ФОРМ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Н. К. Топораш

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова, Одесса, Украина

toporash_93@ukr. net

Основная часть питательных веществ мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) содержится в запасающем органе зерновки — эндосперме, основным компонентом которого является крахмал, состоящий из амилопектина (70–75 %) и амилозы (20–25 %) [8]. Изменение содержания амилозы оказывает значительное влияние на технологические свойства крахмала и муки пшеницы.

Гранул-связанная крахмалсинтаза (GBSSI) или Waxy-белок [13] играет ключевую роль в синтезе амилозы. Гены, кодирующие GBSSI, получили название *Wx*, картированны в хромосомах 7AS (*Wx-AI*), 4AL (*Wx-BI*) и 7DS (*Wx-DI*) генома мягкой пшеницы [4]. *Wx*-гены имеют несколько функциональных — активных аллелей, кодирующих синтез белка Waxy, а также неактивный (*b* — нуль-аллель), при котором синтез функционального белка Waxy отсутствует [7]. У генотипа с одним или двумя нуль-аллелями синтезируется крахмал с пониженным уровнем амилозы, такое зерно при помоле дает муку с повышенной водопоглотительной способностью и амилолитической активностью, хлебобулочные изделия из которой дольше сохраняются свежими — не черствеют [6]. Сорта с пониженным содержанием амилозы широко используются для производства высококачественной лапши в странах Юго-Восточной

© Топораш Н. К., 2012