

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
Федеральное государственное автономное образовательное  
учреждение высшего образования  
«ЮЖНЫЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского

ЦКП «Высокие технологии»

## **ГЕНЕТИКА – ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ ОСНОВА ИННОВАЦИЙ В МЕДИЦИНЕ И СЕЛЕКЦИИ**

Материалы  
Научно-практической конференции с международным участием  
(Ростов-на-Дону, 2–4 ноября 2017 г.)

Ростов-на-Дону – Таганрог  
2017

ББК 28.04я43

Г34

*Конференция поддержана Российским фондом фундаментальных исследований:  
«Проект организации Научно-практической конференции с международным участием  
«Генетика – фундаментальная основа инноваций в медицине и селекции"»  
(проект № 17-04-20580)*

**Главные редакторы:**

доктор биологических наук, профессор *Т. П. Шкурат*;  
доктор биологических наук, профессор *А. В. Усатов*;  
доктор технических наук, профессор *А. Е. Панич*

**Редакционная коллегия:**

доктор биологических наук, профессор *М. М. Асланян*;  
доктор биологических наук, профессор *А. М. Менджерский*;  
доктор биологических наук, профессор *Е. В. Машкина*;  
доктор биологических наук *В. А. Чистяков*

Г34

**Генетика – фундаментальная основа инноваций в медицине и селекции** : материалы Научно-практической конференции с международным участием (Ростов-на-Дону, 2–4 ноября 2017 г.) / Южный федеральный университет ; [гл. ред.: Т. П. Шкурат, А. В. Усатов, А. Е. Панич]. – Ростов-на-Дону ; Таганрог : Издательство Южного федерального университета, 2017. – 158 с.

ISBN 978-5-9275-2542-3

Конференция широко известна и очень популярна как в российских научных кругах (Москва, Санкт-Петербург, Новосибирск, Ростов-на-Дону, Краснодар, Ставрополь, Томск, Красноярск, Челябинск, Казань), так и среди ученых ближнего и дальнего зарубежья (Беларусь, Украина, Армения, Казахстан, Германия, США). В конференции традиционно принимают участие более 300 научных сотрудников и студентов, специалистов в области генетики, фармакогенетики, селекции, биотехнологии.

В настоящем сборнике представлены результаты исследований по клинической генетике и персонализированной медицине, организации генома и биоинформатике, клеточным и геномным технологиям, генетическим основам биотехнологии и селекции.

УДК 575(063)

ББК 28.04я43

ISBN 978-5-9275-2542-3

© Южный федеральный университет, 2017

В основе предлагаемого метода диагностики лежит использование дуплексной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием конкурирующих TaqMan-зондов, комплементарных нуклеотидной последовательности *S. enteritidis*. Дуплексная ПЦР в реальном времени объединяет в себе детектирование сигналов двух генов *sefA* – таргетного гена, кодирующего фимбриальный антиген SEF14, а также гена *invA*, кодирующего специфический белок, встречающийся у рода *Salmonella* и используется, как внутренний контроль амплификации с целью исключения ложноположительных результатов. К выбранным полиморфным локусам с использованием компьютерных программ FastPCR 6.5 и Beacon Designer™ 8.0. были подобраны праймеры и флуоресцентно-меченые зонды. Все последовательности праймеров были проверены на комплементарность, используя международную базу данных <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. Далее проводилась оптимизация условий ПЦР на образцах ДНК *S. Enteritidis*. Для определения специфичности метода была собрана коллекция сероваров *Salmonella enterica* subsp. *Enterica*, относящихся к серогруппам А, В, С, D и Е, в том числе *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Choleraesuis, serovar Virchow, serovar Typhimurium, serovar Infantis. Для объективной оценки предложенного метода проверяли его чувствительность и специфичность. Чувствительность составила около 100 молекул, специфичность – 98 % для серогруппы D, куда входят *S. Enteritidis*, а также другие серовары, не встречающиеся на территории Казахстана (*S. Dublin*, *S. Rostock*, *S. Seremban*).

В результате проведенной работы был разработан метод диагностики возбудителя острой кишечной инфекции серовара *Salmonella enterica* Enteritidis с помощью дуплексной ПЦР в реальном времени, основанный на детекции генов *sefA* и *invA*. Применение разработанного способа идентификации позволит быстро и эффективно определить серовар *S. Enteritidis*, что повысит качество эпидемиологического надзора за сельскохозяйственными животными.

---

УДК 577.218

## ЭКСПРЕССИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ГЕНОВ ХЛОРОПЛАСТОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМАХ ОСВЕЩЕНИЯ

*В.А. Хачумов, А.А. Ковалевич, А.В. Усатов*

*Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1  
E-mail: VladimirKhachumov@yandex.ru*

Многие хлоропластные гены находятся под двойным ядерно-цитоплазматическим контролем. У высших растений большинство белков, принимающих участие в формировании и функционировании хлоропластов, кодируются ядерными генами. Регуляция экспрессии этих генов осуществляется посредством сигналов, индуцируемых светом, которые передаются фоторецепторами. В то же время сами пластиды оказывают влияние на транскрипцию ядерных генов белков пластид с помощью сигналов, направленных от хлоропластов к ядру. Исследование регуляции их экспрессии является одной из фундаментальных задач биологии [1–3].

Целью работы является оценка уровня экспрессии фотосинтетических генов *rbcL*, *rbcS*, *psaA*, *psbA* и *ycf2* хлоропластов подсолнечника (*H. annuus*) при различных режимах освещения.

Материалом исследования служили растения подсолнечника инбредной линии 3629 из генетической коллекции Южного федерального университета. Двухнедельные проростки проращивали в климатической камере («Binder», Германия) трое суток при трех временных режимах освещения: контроль – 16 ч свет + 8 ч темнота; 24 ч – свет; 24 ч – темнота. Затем в листьях растений определяли уровень экспрессии следующих генов: *rbcL* и *rbcS*, кодирующих большую и малую субъединицы рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы/оксигеназы, *psaA* и *psbA*, кодирующих P700 апобелок А1 фотосистемы I и D1-белок фотосистемы II, соответственно, а также ген *ycf2* – предположительно кодирующий белковый продукт, необходимый для нормального функционирования хлоропластов [4].

Было показано, что при 24-часовом световом режиме, экспрессия генов *rbcL* и *rbcS* увеличилась приблизительно в 4 раза относительно контроля (табл.). Вследствие увеличения длительности освещения также увеличился уровень экспрессии генов *psaA* и *psbA* в 3,7 раза. Активность гена *ycf2* не изменилась.

Таблица

**Уровень транскрипции генов подсолнечника линии 3629 после трех суток проращивания при различных световых режимах**

Гены	Контроль	24 ч свет		24 ч темнота	
	$2^{\Delta\Delta CT^*}$	$2^{\Delta\Delta CT^*}$	отн. контр., %	$2^{\Delta\Delta CT^*}$	отн. контр., %
<i>rbcL</i>	0,11 ± 0,07	0,03 ± 4,50×10 <sup>-3</sup>	348	0,74 ± 0,12	-674
<i>rbcS</i>	12,07 ± 1,93	3,05 ± 0,57	395	76,81 ± 9,83	-636
<i>psaA</i>	0,61 ± 0,35	0,16 ± 0,03	387	0,26 ± 0,04	-376
<i>psbA</i>	0,48 ± 0,15	0,13 ± 0,04	365	0,16 ± 0,04	-322
<i>ycf2</i>	6,76 ± 2,23	6,06 ± 2,06	112	13,30 ± 4,38	-196

Примечание: \* – показатели изменения уровня экспрессии генов рассчитаны по методу  $2^{-\Delta\Delta CT}$ ; чем меньше показатель, тем выше уровень транскрипции [5].

У растений, помещенных в темноту, через трое суток наблюдается падение уровня транскрипции всех исследуемых генов. Наибольшее снижение отмечено у генов *rbcL* и *rbcS* (более чем в 6 раз). Отсутствие освещения исключает необходимость в интенсивной работе фотосистемы I и II, и как следствие, уровень экспрессии генов *psaA* и *psbA* был снижен в 3,7 и 3,2 раза, соответственно. Интересно отметить, что при отсутствии освещения в течение трех суток уровень экспрессии гена *ycf2* снизился практически в два раза, в то время как в режиме 24-часового освещения остался на уровне контрольных показателей.

Таким образом, за исключением гена *ycf2*, показана прямая зависимость изменения уровня экспрессии фотосинтетических генов от длительности светового режима. В условиях непрерывного 72-часового освещения экспрессия генов *rbcL*, *rbcS*, *psaA*, *psbA* увеличилась приблизительно в 3,7 раз относительно контроля. При 72-часовой темноте, наоборот, происходит снижение экспрессии этих генов, особенно *rbcL* и *rbcS* (в 6,5 раз относительно контроля).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Юрина Н.П., Погульская Е.Н., Карапетян Н.В. Действие фотодеструкции пластид из обработанных норфлуразоном проростков на экспрессию ядерных генов, кодирующих стрессовые белки хлоропластов ячменя // Биохимия. 2006. Т. 71, №. 4. С. 533–540.
  2. Facella P. et al. Cryptochrome 2 extensively regulates transcription of the chloroplast genome in tomato // FEBS. 2017. Vol. 7, №. 4. P. 456–471.
  3. Graham S.W., Lam V.K.Y., Merckx V.S.F.T. Plastomes on the edge: the evolutionary breakdown of mycoheterotroph plastid genomes // New Phytologist. 2017. Vol. 214, №. 1. P. 48–55.
  4. Drescher A. et al. The two largest chloroplast genome- encoded open reading frames of higher plants are essential genes // The Plant Journal. 2000. Vol. 22, №. 2. P. 97–104.
  5. Livak K. J., Schmittgen T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method // Methods. 2001. Vol. 25, №. 4. P. 402–408.
- Работа выполнена при поддержке государственного задания Минобрнауки России, проект № 6.929.2017/4.6, на оборудовании ЦКП «Высокие технологии» Южного федерального университета.