

На основании полученных результатов можно предположить, что аллели 312-322 н.п. микросателлитного маркера $(GT)_N$ гена *AVPR1A* связаны с пограничными психическими расстройствами.

Вывод

Результаты нашего исследования позволяют выделить микросателлит $(GT)_N$ гена *AVPR1A* как один из маркеров психических расстройств.

Список использованной литературы:

1. Surget, A. et al. Involvement of vasopressin in affective disorders / A. Surget, C. Belzung // *Eur J Pharmacol.* – 2008. –

V. 583. – P. 340-349 Barberis, C. et al. Vasopressin and oxytocin receptors in the central nervous system / C. Barberis, E. Tribollet // *Crit Rev Neurobiol.* – 1996. – V. 10. – P. 119-154.

2. Keck, M.E. et al. Combined effects of exonic polymorphisms in CRHR1 and AVPR1B genes in a case/control study for panic disorder / M.E. Keck, N. Kern, A. Erhardt, P.G. Unschuld, M. Ising // *Am J Med Genet* – 2008. – V.5. -№ 7. – P. 1196-1204.

АНАЛИЗ ЦИРКУЛИРУЮЩЕЙ ДНК КРОВИ УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ МУЖЧИН И ЖЕНЩИН РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

Сирота¹ Н.П., Стрелкова¹ И.Ю., Прокофьев² В.Н., Фоменко¹ Л.А., Безлепкин¹ В.Г.

¹ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

²НИИ Биологии ЮФУ, Ростов-на-Дону, Россия

Внеклеточная ДНК (вкДНК) периферической крови (ПК), а также других жидкостей организма рассматривается многими исследователями как неинвазивный генетический биомаркер при различных заболеваниях, главным образом при канцерогенезе (обзоры: Gormally et al., 2007; Газиев и др., 2010; Kohler et al., 2011). Различные параметры, характеризующие вкДНК (концентрация в ПК, соотношение митохондриальной и ядерной ДНК, нативность структуры), используются для поиска корреляций при мониторинге различных заболеваний. Следует отметить существование большой вариабельности в концентрациях вкДНК между индивидуумами. Показано, что количественные изменения вкДНК плазмы не всегда являются успешным показателем в диагностировании канцерогенных заболеваний (Jung et al., 2003; Herrera et al., 2005; van der Vaart, Pretorius, 2010). Считается, что подавляющая часть вкДНК является фрагментами ядерного и митохондриального геномов погибших клеток, как нормальных тканей, так и патологически измененных (Kohler et al., 2009; Zachariah et al., 2008; Yu, 2012). Имеются данные демонстрирующие, что в условиях воздействия на организм патогенных факторов, генотоксических в том числе, наблюдаются изменения в соотношении ДНК, происходящей из ядерного и митохондриального геномов (Kohler et al., 2009; Zachariah et al., 2008). Однако первоначально важно знать, зависимости между концентрацией вкДНК в ПК и полом и возрастом здоровых доноров. Таких сравнительных исследований в литературе очень мало (Zhong et al., 2007; Juhlava et al., 2011). В основном представлена средняя концентрация вкДНК плазмы или сыворотки для мужчин и женщин на усредненных по возрасту выборках (Sozzi et al., 2001; Tamkovich et al., 2005; Czeiger et al., 2011;).

Материалы и методы.

В работе были использованы образцы ПК (из локтевой вены) от условно здоровых доноров – женщин и мужчин – двух возрастных категорий. Младшая возрастная группа: 6 мужчин (20-30 лет) и 8 женщин (20-30 лет). Старшая возрастная группа: 9 мужчин (60-74 лет) и 8 женщин (53-78 лет). Образцы цельной ПК были собраны в пробирки, обработанные Na_2 ЭДТА. 500 мкл образца ПК центрифугировали при 400хг в течение 20 мин. Супернатант использовали для выделения вкДНК методом фенольно-хлороформенной экс-

тракции с предварительной обработкой протеиназой, осаждали двойным объемом 96% спирта с предварительным добавлением 2 М ацетата натрия до конечной концентрации 0.2 М [Maniatis, 1982].

ПЦР в режиме реального времени. В качестве матрицы использовалась вкДНК при постановке ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) на приборе 7300 Real-Time PCR System (Applied Biosystem, США) в Региональном Пущинском Центре коллективного пользования, отделение ИТЭБ РАН. Реакционная смесь состояла из 1 мкл раствора матричной ДНК (приблизительно 1 нг), 12.5 мкл 2xSYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystem), 250 нМоль/л праймеров. Общий объем реакционной смеси 25 мкл. Условия ПЦР: 50°C 2 мин – 1 цикл; 95°C 10 мин – 1 цикл; 95°C 15 сек, 60°C 1 мин; всего 40 циклов

Результаты. Среднее количество экстрагируемой вкДНК в младшей и старшей возрастной группе у мужчин составляло 1.56 ± 0.6 и 0.91 ± 0.8 мкг/мл, соответственно. Для женских возрастных групп эти значения определены как 0.13 ± 0.2 и 0.42 ± 0.4 мкг/мл, соответственно. Достоверные гендерные различия в концентрации вкДНК выявлены лишь для молодых доноров ($P=0,0023$). В группе пожилых доноров различия по этому параметру отсутствуют ($P=0,14$).

Полученные образцы ДНК были охарактеризованы с помощью электрофоретического анализа в агарозном геле. В основном наблюдается четко различимая полоса, соответствующая фрагменту с молекулярной массой порядка 21,2 т.п.о. Также, в некоторых образцах наблюдалась полоса высокомолекулярной ДНК в области «кармана». Низкомолекулярные фрагменты электрофоретически не выявлялись во многих образцах.

Определение копийности фрагментов геномной и митохондриальной ДНК (по параметру Ct) в исследуемых образцах вкДНК показало наличие одинакового количества митохондриальной ДНК (по гену ND1) в крови мужчин всех возрастов и колебания по числу копий геномной ДНК (по гену ВACT). Также можно отметить существование двух подгрупп в старших возрастных группах, как у мужчин, так и женщин, различающихся по соотношению митохондриальной и ядерной ДНК (параметр ΔCt).

