

*МИНОБРНАУКИ РОССИИ*  
*Федеральное государственное автономное образовательное учреждение*  
*высшего образования*  
*«ЮЖНЫЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»*

*ЦКП «ВЫСОКИЕ ТЕХНОЛОГИИ»*

**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ БИОЛОГИИ,  
НАНОТЕХНОЛОГИЙ И МЕДИЦИНЫ:**

*VI Международная научно-практическая конференция,  
г. Ростов-на-Дону, 1–3 октября 2015 г.*

Ростов-на-Дону  
Издательство Южного федерального университета  
2015

УДК 577  
ББК 28  
А 43

**Главный редактор:**

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

**Редакционная коллегия:**

кандидат биологических наук, профессор *Е.К. Айдаркин*  
доктор биологических наук, профессор *М.М. Асланян*  
доктор биологических наук, профессор *В.В. Внуков*  
доктор биологических наук, профессор *С.И. Колесников*  
доктор биологических наук, профессор *А.В. Усатов*  
доктор медицинских наук, профессор *А.В. Шестопапов*  
доктор биологических наук, профессор *Э.З. Эмирбеков*  
доктор технических наук, профессор *Б.Я. Штейнберг*  
доктор медицинских наук *С.С. Амелина*  
доктор биологических наук *А.М. Ермаков*  
доктор биологических наук *Е.В. Машкина*  
доктор биологических наук *В.А. Чистяков*  
кандидат биологических наук *А.А. Александрова*

**A43** **Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины: Материалы VI Междунар. науч.-практ. конф.; Южный федеральный университет. – Ростов-на-Дону: Издательство Южного федерального университета, 2015. – 312 с.**

ISBN 978-5-9275-1664-3

Настоящий сборник включает в себя труды более чем тысячи авторов всех регионов России, а также ведущих ученых Белоруссии, Украины, Армении, Казахстана, Германии, США. В нем представлены результаты исследований по молекулярной и регенеративной биомедицине, геномным и клеточным технологиям, биоинформатике и биобезопасности, экспериментальной биологии, ветеринарной медицине, медицинскому приборостроению и нанотехнологиям.

© Южный федеральный университет, 2015

Показано, что ORF всех описанных нами R2 ретротранспозонов содержат домен обратной транскриптазы. Кроме того, ORF R2 ретротранспозонов *Periplaneta brunnea* и *Leucophaea maderae* содержат по одному домену цинковых пальцев, в то время как ORF R2 ретротранспозона *Temnopteryx coultoniana* содержит дубликацию коротких аминокислотных последовательностей.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы Президиума РАН «Динамика генофондов».

## СТАБИЛЬНОСТЬ МОЛЕКУЛ ДНК ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ХРАНЕНИИ ЛИСТЬЕВ ПОДСОЛНЕЧНИКА В УСЛОВИЯХ ГЕРБАРИЯ

М.С. Макаренко, В.А. Хачумов, А.В. Усатов, И.В. Корниенко

Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Иванковского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1

E-mail: mcmakarenko@yandex.ru

Гербарные образцы являются уникальным источником для изучения биоразнообразия растений. Современные методы молекулярной биологии позволяют дополнять традиционные исследования морфологических признаков гербарных образцов информацией о структурной организации их геномов. Однако ДНК, выделяемая из гербарных образцов, является в значительной степени фрагментированной, что негативно влияет на результаты молекулярно-генетических исследований. В связи с этим мы провели оценку уровня деградации молекул ядерной и хлоропластной ДНК в листьях многолетнего подсолнечника *Helianthus rigidus*, хранившегося в течение 10 лет в условиях гербария Кубанской опытной станции ВИР. В качестве объектов сравнения использовали те же коллекционные образцы или из свежих листьев растений, или хранившиеся в течение одного года при температуре  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

ДНК выделяли из 50 мкг листьев с помощью набора «ФитоСорб» (Синтол, Россия). Содержание ДНК определяли методом ПЦР-РВ с использованием прибора Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия). Для этого использовали праймеры, фланкирующие SSR локусы: ORS509 (ядерная ДНК) и NTCP9 (хлДНК). Эффективность ПЦР для каждой пары праймеров составила 80 %, а размер ампликонов не превышал 300 п.о. Содержание ДНК рассчитывали на абсолютно сухой вес листовой ткани. Результаты количественной оценки ДНК представлены в таблице.

Таблица

Содержание ядерной и хлоропластной ДНК подсолнечника

Условия хранения растительного материала	Контроль, свежий материал	1 год при $t^{\circ} = -80\text{ }^{\circ}\text{C}$		10 лет при комнатной $t^{\circ}$ в условиях гербария	
	абс. знач. (Ct)	абс. знач. (Ct)	% отн. контр.	абс. знач. (Ct)	% отн. контр.
Ядерная ДНК	23,5±0,5	23,7±0,6	91 %	28,8±0,9	8,3 %
Хлоропластная ДНК	18,3±1,4	18,7±1,9	83 %	25,6±2,6	3,2 %

Примечание: Ct – пороговый цикл, отражающий количество копий ДНК в образцах.

Видно, что содержание ядерной ДНК в гербарном материале уменьшилось в 12 раз, а хлоропластной ДНК в 30 раз. Эти изменения свидетельствуют о значительной деградации молекул как ядерной, так и, особенно, хлоропластной ДНК. Уровень деградации хлоропластной ДНК был в 2,5 раза выше, чем ядерной ДНК. Достоверных различий в содержании ДНК в листьях контрольных образцов и листьях, хранившихся 1 год при  $T = -80\text{ }^{\circ}\text{C}$  не установлены. Несмотря на значительное снижение числа молекул ДНК, в целом в гербарных образцах сохраняется достаточное количество ДНК для анализа коротких последовательностей (до 300 п.о.). Однако для многих современных молекулярных методов, к примеру полногеномного секвенирования, как правило, требуется получение ампликонов большего размера. В дальнейшем мы планируем оценить уровень деградации более крупных фрагментов ДНК.

*Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ, проект № 40.91.2014/К.*

---

## **ЛОКАЛИЗАЦИЯ ИНДУЦИРОВАННЫХ МУТАЦИЙ В ХЛОРОПЛАСТНОМ ГЕНОМЕ ПЕСТРОЛИСТНЫХ ЛИНИЙ ПОДСОЛНЕЧНИКА**

***Н.В. Маркин<sup>1</sup>, М.Д. Логачева<sup>2</sup>, Н.С. Колоколова<sup>1</sup>, А.В. Усатов<sup>1</sup>***

*<sup>1</sup>Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Иванковского, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1*

*<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, институт Физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, 119992, Российская Федерация, г. Москва, Ленинские горы, 1, стр. 40*

*E-mail: nmarkin@mail.ru*

В Южном федеральном университете создана уникальная коллекция хлорофильных мутантов подсолнечника. Все мутанты были индуцированы с помощью N-нитрозо-N-метилмочевины (НММ) на генетической основе инбредной зеленой линии № 3629. Мутантные линии различаются между собой по содержанию пигментов и др. морфофизиологическим показателям. Ультраструктурный анализ клеток и клеточных органелл листьев мутантов продемонстрировал изменения тонкой структуры, приводящих к хлорофильным дефектам, и, как следствие, снижению фотосинтетической активности. Гибридологическим анализом была доказана внеядерная природа наследования мутантных признаков. Однако для корректного подтверждения внеядерной природы хлорофильных дефектов необходимо было локализовать мутации в хлоропластном геноме. С этой целью у двух пестролистных мутантов *var-10* и *var-13* с белой (содержание хлорофиллов *a* и *b* 0,25 мг/г сухого веса) и желтой (содержание хлорофиллов *a* и *b* 0,52 мг/г сухого веса) мутантными тканями, соответственно, была секвенирована хлДНК. В качестве контроля использовали растения исходной линии № 3629 (содержание хлорофиллов *a* и *b* 8,53 мг/г сухого веса).

Полногеномное секвенирование хлДНК проводили на секвенаторе HiSeq 2000 («Illumina», USA) с длиной чтения 100+100. Полученные последовательности картировали на референсный