

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА
ФБУН ЦНИИ ЭПИДЕМИОЛОГИИ РОСПОТРЕБНАДЗОРА
НЕКОММЕРЧЕСКОЕ ПАРТНЕРСТВО «НАЦИОНАЛЬНОЕ НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО ИНФЕКЦИОНИСТОВ»

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА 2014



VIII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием
**МОЛЕКУЛЯРНАЯ
ДИАГНОСТИКА**
2014
www.md2014.ru

**СБОРНИК ТРУДОВ
VIII ВСЕРОССИЙСКОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ
КОНФЕРЕНЦИИ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ**

Том II

Москва, 2014

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ
ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА

ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ «ЦЕНТРАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ
ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА

НЕКОММЕРЧЕСКОЕ ПАРТНЁРСТВО «НАЦИОНАЛЬНОЕ НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО ИНФЕКЦИОНИСТОВ»

**VIII Всероссийская научно-практическая конференция
с международным участием**

«МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА -2014»

СБОРНИК ТРУДОВ

Под редакцией академика РАН В.И. Покровского

ГЕНЕРАЛЬНЫЙ СПОНСОР: ООО «ИнтерЛабСервис»

ТОМ II

Москва
2014

УДК 577.21
ББК 28.04
М75

СОСТАВ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ:

Покровский В.И. (главный редактор)
Шипулин Г.А. (ответственный секретарь)
Альварес Фигероа М.В.
Астахова Т.С.
Гущин А.Е.
Жигалева О.Н.
Карандашова И.В.
Карань Л.С.
Киреев Д.Е.
Коновалов А.
Коновалов А.С.
Кувда Д.А.
Кураков С.В.
Маркелов М.Л.
Мионов К.О.
Неверов А.Д.
Подколзин А.Т.
Рыжих П.Г.
Творогова М.Г.
Чуланов В.П.
Шипулина О.Ю.
Яцышина С.Б.

М75 **Молекулярная диагностика.** Сб.трудов / колл.авт., под ред. В.И. Покровского. – Т. 2 – М.: ООО "Издательство МБА", 2014. – 564 с.

ISBN 978-5-906325-79-2
ISBN 978-5-906325-81-5

Во втором томе Сборника трудов конференции «Молекулярная диагностика 2014» значительное место уделено результатам исследований российских и зарубежных специалистов в области молекулярной онкологии, медицинской генетики, фармакогенетики, генетического анализа и полногеномного секвенирования (NGS).

Отдельный раздел посвящен вопросам идентификации личности и применения молекулярных методов в судебной медицине и криминалистике.

Особое внимание уделено вопросам стандартизации и управления качеством новых технологий молекулярной диагностики, в том числе с использованием современных автоматизированных решений и программно- аппаратных комплексов.

Также в сборнике рассмотрены вопросы генетического анализа сельскохозяйственных растений и перспективы применения молекулярно-биологических методов в контроле качества и безопасности продуктов питания и ветеринарии.

Для специалистов в области лабораторной диагностики и научных работников. Сборник будет интересен врачам клинической лабораторной диагностики, инфекционистам, гинекологам, урологам, дерматовенерологам, гепатологам, пульмонологам, фтизиатрам, трансфузиологам, трансплантологам, генетикам, судебно-медицинским экспертам, эпидемиологам, врачам общей практики, ветеринарным врачам, студентам медицинских и ветеринарных учебных заведений.

Издано в Российской Федерации по решению Организационного комитета VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2014».

УДК 577.21
ББК 28.04

© Коллектив авторов, 2014

ISBN 978-5-906325-81-5

ОГЛАВЛЕНИЕ**Раздел 17. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ОНКОЛОГИЯ**

ПРИМЕНЕНИЕ FISH МЕТОДА В ОНКОЦИТОЛОГИИ Славнова Е.Н., Волченко Н.Н.	35
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ ПРИ СПОРАДИЧЕСКОЙ ФОРМЕ ПАПИЛЛЯРНОГО ТИРЕОИДНОГО РАКА У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ Маньковская С.В.	35
ИЗУЧЕНИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННОГО МАРКЕРА HE4 У БОЛЬНЫХ С ОПУХОЛЯМИ МОЧЕПОЛОВЫХ ОРГАНОВ. Алентов И. И., Сергеева Н. С., Алексеев Б. Я., Крашенинников А. А., Маршутина Н. В.	36
ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫЕ МОЛЕКУЛЫ И СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА И КИШЕЧНИКА Абакушина Е.В., Маризина Ю.В., Неприна Г. С., Пасова И.А., Абакушин Д.Н., Клиникова А.В., Коваленко Е.И.	39
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОМПЛЕКСА УРИНОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В ДИАГНОСТИКЕ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ (НАШ ПЕРВЫЙ ОПЫТ) Сивков А.В., Рощин Д.А., Перепечин Д.В., Лоцилов Ю.А., Никонова Л.М., Касатонова Е.В.	40
ТИПИРОВАНИЕ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ПОМОЩЬЮ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА ЭКСПРЕССИИ МИРНК Титов С. Е., Иванов М.К., Колесников Н.Н., Карпинская Е. В., Шевченко С.П.	41
ДИАГНОСТИКА НАСЛЕДСТВЕННЫХ ФОРМ ОПУХОЛЕЙ У ДЕТЕЙ Казубская Т.П., Козлова В.М., Амосенко Ф.А., Бржезовский В.Ж., Поляков В.Г.	43
АНАЛИЗ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНА MGMT ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У РУССКИХ ЖЕНЩИН МОСКОВСКОГО РЕГИОНА Бурденный А.М., Логинов В.И., Чельшева Д.С., Казубская Т.П., Брага Э.А.	44
ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ RAR-beta2 И NKIRAS1 ПРИ РАКЕ ЛЕГКОГО. Пронина И.В., Рыков С.В., Ходырев Д.С., Бурденный А.М., Казубская Т.П., Брага Э.А., Логинов В.И.	44
ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ МЕТИЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРОВ ГЕНОВ CASP8, FAS И BRCA1 В РАЗВИТИИ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ И ПИЩЕВОДА Иксан О.А., Мухамбетов О.Б., Скворцова Л.А., Жунусова Г.С., Жунусбекова Б.Б., Абылченова А.Р., Жумыкбаева Н.К., Хусаинова Э.М., Бекманов Б.О., Джансугурова Л.Б.	45
ХАРАКТЕР ЭКСПРЕССИИ БЕЛКА AURORA В ЗАВИСИТ ОТ НАЛИЧИЯ АМПЛИФИКАЦИЙ В ПЕРИЦЕНТРОМЕРНОМ РЕГИОНЕ 17 ХРОМОСОМЫ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ Павленко И.А., Повилайтите П.Е., Мационис А.Э.	46
ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНОМНЫХ НУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ПРИ НОВООБРАЗОВАНИЯХ КОСТЕЙ Кушлинский Н.Е., Тимофеев Ю.С., Генерозов Э.В., Наумов В.Н., Булычева И.В., Кузнецов И.Н., Тен Е.А., Соловьев Ю.Н., Алиев М.Д.	46
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПАТТЕРНОВ МЕТИЛИРОВАНИЯ/ДЕЛЕЦИЙ ГЕНОВ ХРОМОСОМЫ 3 ПРИ РАКЕ ЛЕГКОГО, ШЕЙКИ МАТКИ И ЯИЧНИКОВ С ПРИМЕНЕНИЕМ NOTI-МИКРОЧИПОВ Дмитриев А.А., Краснов Г.С., Сенченко В.Н., Кашуба В.И.	48
ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ Пешков М.Н.	49

МОНИТОРИНГ ЗА ПИЩЕВЫМИ ПРОДУКТАМИ, СОДЕРЖАЩИМИ ГМО, НА ПОТРЕБИТЕЛЬСКОМ РЫНКЕ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА	
Дмитриева Г.А., Уголькова Т.Б., Забалуева Г.В.	408
РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ДНК ЛОШАДИ В МЯСНОЙ ПРОДУКЦИИ И СРАВНЕНИЕ ЕЕ С EUURL-AP МЕТОДИКОЙ ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ	
Давыдова Е.Е., Солтынская И.В., Груднева Ю.В., Обухов И.Л., Панин А.Н.	409
ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПАТОГЕННОСТИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР У ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ПИЩЕВЫХ ТОКСИКОИНФЕКЦИЙ SAMPYLOBACTER JEJUNI	
Ефимочкина Н.Р., Быкова И.Б., Батищева С.Ю., Маркова Ю.М., Короткевич Ю.В., Шевелева С.А.	410
РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ LISTERIA MONOCYTOGENES И LISTERIA IVANOVII НА ОСНОВЕ МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ПЦР В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»	
Васильев Д.А., Мاستиленко А.В., Ковалева Е.Н.	411
СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ АНАЛИЗА ЗАРАЖЕННОСТИ ЗЕРНА ГРИБАМИ РОДА FUSARIUM С ПРИМЕНЕНИЕМ ПЦР	
Минаева Л.П., Короткевич Ю.В., Шевелева С.А.	413
 Раздел 26. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ	
РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ДНК-ИДЕНТИФИКАЦИИ СОРТОВ КОСТОЧКОВЫХ КУЛЬТУР	
Урбанович О.Ю., Кузмицкая П.В., Козловская З.А.	414
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ СОРТОВ РИСА ДАЛЬНЕВОСТОЧНОЙ СЕЛЕКЦИИ И ПОЛУЧЕННЫХ ОТ ЭТИХ СОРТОВ РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ, ВЫЯВЛЕННАЯ МЕТОДОМ RAPD	
Артюкова Е.В., Козыренко М.М.	415
РАЗРАБОТКА СТРАТЕГИИ СЕКВЕНИРОВАНИЯ НА ПЛАТФОРМЕ 454 И АНАЛИЗА МУТАЦИЙ В ВЫСОКОПОЛИМОРФНЫХ МНОГОКОПИЙНЫХ ГЕНАХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ	
Сперанская А.С., Криницына А.А., Беленикин М.С., Кудрявцева А.В., Мельникова Н.В., Дмитриев А.А., Снежкина А.А., Садритдинова А.Ф., Шаргунов А.В., Краснов Г.С.	416
АПРОБАЦИЯ ДНК-МАРКЕРНОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ГЕНА ПОЛИГАЛАКТУРОНИДАЗЫ ЯБЛОНИ MD-PG1, ДЕТЕРМИНИРУЮЩЕГО СТЕПЕНЬ ПЛОТНОСТИ МЯКОТИ ПЛОДОВ ЯБЛОНИ	
Токмаков С. В., Супрун И. И.	417
ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОТИПОВ СОРТОВ ВИНОГРАДА ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ IN VITRO НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ПОЛИМОРФИЗМА МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ	
Ильницкая Е.Т., Токмаков С.В., Ребров А.Н.	418
МОЛЕКУЛЯРНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ГРУПП ИЗОЛЯТОВ VENTURIA INAEQUALIS, РАСПРОСТРАНЕННЫХ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ	
Межнина О.А., Урбанович О.Ю., Гашенко Т.А., Козловская З.А.	420
ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВИРУСОВ ЯБЛОНИ МЕТОДОМ ОТ-ПЦР	
Кузмицкая П.В.	421
SSAP МАРКЕРЫ ЛЬНА (LINUM USITATISSIMUM L.) И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ОЦЕНКИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ И МАРКИРОВАНИЯ СОРТОВ	
Мельникова Н.В., Большева Н.Л., Зеленин А.В., Лакунина В.А., Юркевич О.Ю., Сперанская А.С., Дмитриев А.А., Криницына А.А., Беленикин М.С., Снежкина А.В., Садритдинова А.Ф., Амосова А.В., Саматадзе Т.Е., Гузенко Е.В., Лемеш В.А., Рачинская О.А., Кишлян Н.В., Рожмина Т.А., Муравенко О.В., Кудрявцева А.В.	422

ры, характеризующиеся высоким уровнем полиморфизма SSR-аллелей в геноме сортов разных видов косточковых культур. Среднее значение наблюдаемой гетерозиготности (H_e) составило для вишни обыкновенной – 0,677, черешни – 0,555, сливы домашней – 0,763, сливы диплоидной – 0,687, абрикоса – 0,627. Число эффективных аллелей (A_e) этих видов имело значение 4,287, 3,069, 8,494, 6,232 и 3,709 соответственно. Показано высокое генетическое разнообразие локусов микросателлитных последовательностей сортов вишни обыкновенной, черешни, сливы домашней, сливы диплоидной, абрикоса. Определен набор SSR-маркеров, позволяющий проводить идентификацию сортов косточковых культур.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ СОРТОВ РИСА ДАЛЬНЕВОСТОЧНОЙ СЕЛЕКЦИИ И ПОЛУЧЕННЫХ ОТ ЭТИХ СОРТОВ РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ, ВЫЯВЛЕННАЯ МЕТОДОМ RAPD

Артюкова Е.В., Козыренко М.М.

ФГБУН Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия

Генетическое разнообразие исходных форм повышает эффективность селекционного процесса. Одним из способов создания генетического разнообразия исходного материала является получение соматоклональных вариантов. Культивирование *in vitro* может вызывать дестабилизацию генома, отдаленные последствия которой проявляются в повышенной генетической изменчивости потомства растений-регенерантов. Сравнение генетического разнообразия сортов и полученных от них соматоклонов может способствовать выявлению наиболее перспективных вариантов для дальнейшей селекционной работы.

Для получения соматоклональных вариантов сортов риса дальневосточной селекции Дарий 8 и ДВРОС 0215 из соматической ткани растения-донора инициировали клеточную культуру, которую затем субкультивировали в течение 3-х пассажей и перенесли на среды для регенерации растений. В этот период происходило, с одной стороны, увеличение биомассы клеток, с другой – накопление изменений в генетическом аппарате клеток, которые привели к появлению соматоклональной изменчивости. На уровне растения-регенеранта R_0 соматоклональная изменчивость проявилась в виде изменений морфологических признаков, таких как высота растения, длина метелки, общее число колосков и число стерильных колосков на главной метелке, масса зерна с главной метелки. Наиболее высокий уровень изменчивости был обнаружен у признаков "длина метелки" и "пустозерность", которые вносят большой вклад в формирование урожая. Высокий уровень межлинейной изменчивости предполагает возможность отбора в популяции регенерантов риса вариантных растений с более высокой, чем у исходного сорта, продуктивностью.

Для оценки уровня генетической изменчивости между соматоклональными линиями и по сравнению с изменчивостью исходных сортов был проведен RAPD-анализ растений сортов Дарий 8 (13 растений) и ДВРОС 0215 (11 растений) и полученных от них регенерантов (26 и 18 растений, соответственно). Наследуемые по доминантному типу RAPD-маркеры представляют мультилокусную систему. Для анализа использовали 16 праймеров (ОРА-09, ОРВ-18, ОРВ-06, ОРВ-07, ОРС-05, ОРС-06, ОРС-08, ОРН-13, ОРК-9, ОРН-14, ОРН-19,

Заключение. На основе анализа состава SSR-аллелей разработаны молекулярно-генетические паспорта отдельных сортов косточковых культур, выращиваемых в Беларуси. Каждый генотип представлен уникальной комбинацией аллелей в локусах микросателлитных последовательностей, позволяющей отличить его от других генотипов. Метод ДНК-идентификации соответствует критериям отличимости, однородности и стабильности ООС-теста. Метод может быть использован в селекции косточковых культур, для охраны авторских прав селекционных учреждений, выявления и сохранения уникального коллекционного материала.

ОРО-10, РА 46, ОРУ-18, ОРУ-05, ОРЗ-03), которые инициировали синтез четких, воспроизводимых в повторных экспериментах фрагментов. Статистическую обработку бинарных матриц, составленных по каждому праймеру, в которых присутствие или отсутствие в спектре одинаковых фрагментов обозначали как "1" или "0", проводили с использованием пакетов прикладных программ POPGENE, TFPGA и TREECON – рассчитывали долю полиморфных локусов при 95%-ном критерии (P95), генное разнообразие (H , аналог ожидаемой гетерозиготности) и индекс Шеннона (S_i). Распределение генетической изменчивости по иерархическим уровням (AMOVA) определяли, используя пакет программ ARLEQUIN 3.01. Дендрограммы генетических взаимоотношений между популяциями и отдельными растениями строили методом UPGMA на основе матриц попарного генетического различия (D_N), оценивая достоверность дендрограмм методом бутстрепа (1000 реплик).

Анализ RAPD-спектров выявил значительный полиморфизм в выборках растений исходных сортов риса Дарий 8 и ДВРОС 0215: из 230 учтенных фрагментов 126 (54,8%) оказались полиморфными. Каждое растение обладало уникальным RAPD-фенотипом, но маркеров, дифференцирующих сорта, не обнаружено. Различия между сортами заключались в вариациях частот полиморфных фрагментов, которые, как показал тест Фишера на дифференциацию, оказались статистически незначимыми. Оба сорта обладали сходным уровнем изменчивости, и генетические дистанции по Неи между ними были невысоки ($D_N = 0.0587$). Анализ распределения генетической изменчивости показал, что большая часть (75,56%, $P < 0.0001$) от общей изменчивости связана с индивидуальной изменчивостью внутри сорта.

Растения-регенеранты R_0 обладали более высоким уровнем полиморфизма. Из 230 учтенных ампликонов 163 (70,9%) были полиморфными. В RAPD-спектрах некоторых регенерантов отсутствовали 6 мономорфных для сортов фрагментов, в то же время обнаружено 16 новых ампликонов, отсутствующих в спектрах растений исходных сортов. С использованием теста Фишера установлено, что выявленные различия между сортом и его регенерантами, а также между регенерантами разных сортов статистически

значимы. Приведенные в таблице основные параметры генетической изменчивости показывают, что изменчивость растений-регенерантов R0 была в 1.3 и 1.5 раза выше, чем у исходных сортов ДВРОС 0215 и Дарий 8, соответственно.

Показатели генетической изменчивости сортов Дарий 8 и ДВРОС 0215 и полученных от них регенерантов R0

Сорт/регенерант	Число растений	Доля полиморфных локусов, P_{95} , %	Генное разнообразие, H	Индекс Шеннона, SI
сорт Дарий 8	13	36.96	0.148	0.213
сорт ДВРОС 0215	10	34.78	0.150	0.211
Регенеранты Дарий 8	26	58.26	0.225	0.326
Регенеранты ДВРОС 0215	18	47.83	0.197	0.279

Доля изменчивости, обусловленная сортовой принадлежностью регенерантов, составляла лишь 12%, что в два раза ниже, чем межсортовая изменчивость исходных сортов; генетические дистанции по Неи между регенерантами разных сортов также были ниже ($D_N = 0.0451$), чем между сортами. Интересно отметить, что регенеранты оказались более дифференцированными от исходного сорта, чем сорта между собой – почти 40% от общей изменчивости приходится на изменчивость между регенерантами и сортом, от которого они были получены.

Дендрограмма генетических взаимоотношений между регенерантами R0 и растениями исходных сортов также показывает, что генетическое разнообразие регенерантов существенно выше, чем у исходных сортов, в то же время ре-

генеранты разных сортов генетически более сходны между собой, чем с исходными сортами, и образуют одну смешанную, хорошо обособленную от растений исходных сортов, группу. Это указывает на единство механизмов, индуцирующих увеличение изменчивости в ходе культивирования *in vitro* и регенерации.

Полученные результаты генетического анализа соматической изменчивости растений-регенерантов двух сортов риса дальневосточной селекции позволяют предположить, что изменчивость, возникающая в процессе культивирования и регенерации *in vitro*, имеет эпигенетическую природу, выходит за пределы внутрисортовой и воссоздает естественное внутривидовое разнообразие.

РАЗРАБОТКА СТРАТЕГИИ СЕКВЕНИРОВАНИЯ НА ПЛАТФОРМЕ 454 И АНАЛИЗА МУТАЦИЙ В ВЫСОКОПОЛИМОРФНЫХ МНОГОКОПИЙНЫХ ГЕНАХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Сперанская А.С.^{1,2}, Криницына А.А.², Беленикин М.С.³, Кудрявцева А.В.⁴, Мельникова Н.В.⁴, Дмитриев А.А.⁴, Снежкина А.А.⁴, Садритдинова А.Ф.⁴, Шаргунов А.В.^{5,6}, Краснов Г.С.^{5,6}

¹ ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

² МГУ им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия

³ НПЦ МДП, Москва, Россия

⁴ ФГБУ ИМБ им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

⁵ ФГБУ НИИВС им. И.И. Мечникова РАМН, Москва, Россия

⁶ ФГБУ ИБМХ им. В.Н. Ореховича РАМН, Москва, Россия

Введение

В настоящее время методы исследования, основанные на применении различных технологий секвенирования второго поколения, активно используются для решения различных практических задач, в частности, для идентификации полиморфизмов в аллельных генах. Многие гены растений, в том числе определяющие сельскохозяйственно важные признаки, такие как устойчивость к патогенам, представлены в геномах множественными паралолическими копиями, образующимися как следствие дупликации участков геномной ДНК в процессе эволюции. Помимо этого, культивируемые растения, как правило, являются полиплоидными организмами. При таргетном секвенировании генов такого типа в процессе пробоподготовки образуется смесь амплифицированных фрагментов большого количества аллельных вариантов, различающихся незначительно. Существенной проблемой, затрудняющей обработку данных такого рода, является образование в процессе амплификации при пробоподготовке артефактных химерных последователь-

ностей, возникающих в результате отжига на матрице не до конца синтезированных на ранних стадиях ПЦР фрагментов аллельных генов в качестве праймеров. Аналогичные проблемы возникают при секвенировании генов 16S рРНК в метагеномных исследованиях. Как показали предыдущие работы [например, Haas et al., 2011] количество химерных ридов при параллельном секвенировании смеси близких генов может достигать 70%, хотя обычно оно не превышает 15-40%. Процент гибридных последовательностей может быть сокращен за счет ужесточения условий проведения эксперимента [Schloss et al., 2011 и др.], но не может быть сведен до нуля. Таким образом, на первый план выступает проблема обработки данных секвенирования такого типа.

Цель и задачи

Задачей настоящей работы явилась разработка (1) стратегии секвенирования на платформе 454 спектра генов сельскохозяйственных растений, представленных множественными копиями и (2) способа анализа полученных данных.

VIII Всероссийская научно-практическая конференция

с международным участием

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА -2014

СБОРНИК ТРУДОВ

Под редакцией академика РАН В.И. Покровского

ГЕНЕРАЛЬНЫЙ СПОНСОР: ООО «ИнтерЛабСервис»

ТОМ II

ООО «Издательство МБА»

Москва, ул. Озёрная, д. 46 тел.: (495) 726-31-69;
(495) 968-24-16; (495) 623-45-54; (495) 625-38-13.

e-mail: izmba@yandex.ru

Генеральный директор С.Г. Жвирбо

Подписано в печать 03.03.2014. Печать офсетная.

Бумага офсетная 80 гм². Формат 60x84 ¹/₈

Усл. печ. л. 65,57.

Тираж 500 экз. Заказ № 237.

ISBN 978-5-906325-81-5



9 785906 325815