

« М.А. Гендельманның 110 жылдығына арналған «Сейфуллин окулары – 19» халықаралық ғылыми-практикалық конференциясының материалдары = Материалы международной научно-практической конференции «Сейфуллинские чтения – 19», посвященной 110 - летию М.А. Гендельмана» - 2023.- Т.І, Ч.ІІ.- С.224-226

УДК 619:616-07

ПЦР КАК МОЛЕКУЛЯРНО - ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ TAENIA

*Кан М. Д., магистрант 2-го курса
Киян В.С., PhD, ассоциированный
профессор*

*Казахский агротехнический
исследовательский университет имени С. Сейфуллина, г. Астана*

Благодаря достижениям в области молекулярной диагностики в наше время появились новые усовершенствованные инструменты для дифференциации и идентификации возбудителей различных паразитозов, в том числе и тениозов, такие как ПЦР [1].

В настоящей работе мы изучали генетическую характеристику ДНК гельминтов, используя сравнительно новый молекулярно-генетический метод - полимеразную цепную реакцию (ПЦР), который основан на взаимодействии синтетических олигонуклеотидных праймеров со случайными участками ДНК, которые присутствуют в геноме гельминтов. При дальнейшем анализе по электрофорезу наблюдается спектр амплифицированных ДНК-продуктов, характерный для каждого генотипа. Метод является менее трудоемким и позволяет выявлять маркерные участки генома у исследуемого вида. При этом, как и с ДНК-фингерпринтингом или дальнейшем проведением секвенирования, можно решать проблемы идентификации и родства организмов, а также разобрать филогенетику [2].

Молекулярно-генетическая диагностика основана на идентификации рода и вида гельминта на основе особенностей расположения и цепи нуклеотидной цепочки.

Однозначно перед проведением необходимо выделение ДНК из небольшого фрагмента паразита. Данный процесс проводится предварительно путем отсечения небольшой части проглоттиды или проглоттиды с сколексом. В зависимости от проводимого исследования и состояния материала существуют различные методы выделения ДНК. В основном используют фенол-амин-хлороформный метод. Однако данный метод требует осторожности и проведением этапов под вытяжкой.

По возможности используют наборы для выделения. Выделив ДНК необходимо определить концентрацию ДНК каждого исследуемого объекта [3].

Поскольку ПЦР является новой разработкой и становится востребованным, этот метод позволяет определить особенность длины цепочки, а также другие генетические особенности.

Преимуществом этого метода является наибольшая точность и упрощенность анализа: поскольку морфологически с помощью окрашивания и микроскопирования среза гораздо сложнее определить вид *Taenia* по особенностям внешнего и внутреннего строения на примере *Mesocestodes* и *Taenia krabbei* [4].

В ходе исследования мы отделяли часть тела взрослых червей семейства *Taenia*. Для проведения ПЦР анализа были использованы видоспецифические праймеры *cox1*. Выбор последовательности праймеров был основан на том, что он является единственной областью *rDNA* и *mDNA*, которая достаточно вариабельна, чтобы различать полиморфизмы внутри видов паразитов.

Постановку реакции проводили по общепринятой схеме. В котором были установлены следующие параметры, денатурация образцов проходила при 95°C - 30сек, отжиг праймеров при 60°C - 30сек, и элонгация, реплицирование матричной цепи при 72°C - 1мин, всего было 40 циклов [5].

Полученные ПЦР продукты анализировали с помощью 1,2 % агарозного электрофореза, данные которого приведены на рисунке 1.

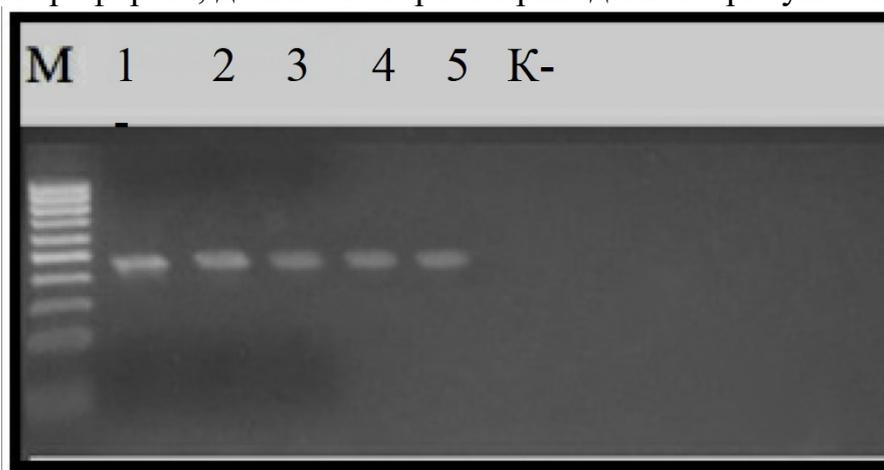


Рисунок 1. Результаты постановки ПЦР в электрофорезном геле, отработка праймера *cox1*: М – маркер 1,2,3,4,5 – изучаемые образцы, К- – отрицательный контроль

На основе изученных данных длина нуклеотидных последовательностей у семейства *Taenia* при постановке с видоспецифическим праймером *cox1* равно 448 п.н.

Для нашего исследования преимуществом метода было то, что он позволяет установить гельминт на уровне ДНК, к тому же продукты ПЦР далее могут быть использованы для постановки секвенирования и подробной расшифровки нуклеотидов и сравнением результатов с данными по BLASTn.

Значимость этих данных намного выше, чем исключительно морфологический скрининг. Поскольку при наблюдении за незнакомой

морфологией паразитологи часто обращаются к атласам и учебникам, чтобы определить тип рассматриваемого гельминта и могут быть допущены ошибки идентификации, к примеру затруднителен подсчет количества крючьев при микроскопии [6].

Таким образом, можно сделать вывод, что использование методов молекулярно - генетической дифференциации, оправдывает исследование и позволяет оптимально изучить наличие мутации или полиморфизма. Эти методы позволяют более тщательно изучить структуру и расположение нуклеотидов в цепи ДНК, что, в свою очередь, делает анализ более точным и является неотъемлемой преимущественной частью паразитологического исследования.

Исследование, представленное выше, было проведено при финансовой поддержке Министерства образования и науки Республики Казахстан в рамках проекта AP08052252 на 2020-2022 годы.

Список литературы:

- 1 Лоуренс Р. Эш, Томас К. Орихел А. Паразитология человека: учебное пособие для Американского общества клинической патологии [Текст]: - Чикаго-, 2007. - 315 с.
- 2 Ван Лисхаут Л., Ростенберг М. Клинические последствия новых диагностических инструментов для кишечных паразитов[Текст]: учебное пособие по клинической микробиологии. - Нью-Йорк, -2015. - 2 с.
- 3 Гарсия Л.С. Диагностическая медицинская паразитология: учебное пособие по патогенезу и клиническим аспектам инфекций [Текст]: - Вашингтон, -2007. - 1112 с.
- 4 Стоард Д., Адамс Э. Предисловие к достижениям в диагностике инфекционных и паразитарных заболеваний: выявление паразитов, имеющих медицинское и ветеринарное значение[Текст]:. - Кембридж: издательство Кембриджского университета, -2014. - 1781 с.
- 5 Киодини П. Новая диагностика в паразитологии[Текст]: учебное пособие для Национальной медицинской библиотеки, - Нью-Йорк -2005. 267 с.
- 6 Дейли Р., Киодини П. Лабораторные исследования и диагностика тропических болезней у путешественников[Текст]: учебное пособие для Национальной медицинской библиотеки, - Чикаго - 2012. 803 с.