

5. *Ausubel F.M, Brent R., Kingston R.E, et al.* Current protocols in molecular biology // New York. 2nd ed. 1993. Vol. 1.
6. *McPherson M. J.* PCR // Oxford: BIOS Scientific Publishers, 2000. 276 p
7. *Chia Min-Yuan, et al.* Improved immunogenicity of DNA constructs co-expressing the Gp5 and M proteins of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by glycine-proline-glycine-proline (GPGP) linker in mice // Taiwan Vet J. 2011. 37 (1). P.12–23

СВЯЗЬ ЛОКУСА RS1625579 ГЕНА MIR137 С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ШИЗОФРЕНИИ У ЖИТЕЛЕЙ БЕЛАРУСИ

А. Е. Макаревич А. С. Кондратенко

В результате исследования в рамках полногеномного поиска ассоциаций (англ. GWAS – Genome-wide association study), с участием 36989 пациентов, больных шизофренией и 113075 здоровых людей, опубликованного в 2014 году, ген MIR137 был включен в перечень 108 локусов, строго ассоциированных с шизофренией [1]. Продукт данного гена – микроРНК miR-137, участвует в регуляции процессов эмбрионального и постэмбрионального развития нервной системы, таких как инициация пролиферации нервных стволовых клеток, дифференцировка нейронов, обеспечение процессов синаптогенеза, нейрогенеза, нейротрансмиссии и синаптической пластичности [2; 3; 4; 5].

Среди всех однонуклеотидных полиморфизмов, детектированных в гене MIR137, наиболее значимая ассоциация с шизофренией была показана для трансверсии rs1625579 ($p = 1.6 \times 10^{-11}$) [6]. Однако функциональная роль этой мутации, локализованной в «интронной» области первичного транскрипта гена (англ. pri-miRNA – primary microRNA), до сих пор остается труднообъяснимой. Мажорный аллель Т данного локуса определен фактором риска развития шизофрении и, как было показано на постмортальных образцах ткани головного мозга человека, связан со сниженным уровнем экспрессии продукта гена MIR137 у гомозиготных по данному аллелю лиц по сравнению с носителями минорного аллеля [3; 6].

Целью нашего исследования было изучение связи локуса rs1625579 гена MIR137 с риском развития шизофрении у жителей Беларуси.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

ДНК-банк, содержащий генетический материал всех участников данного исследования, был создан на базе лаборатории нехромосомной наследственности Института генетики и цитологии Национальной акаде-

мии наук Беларуси. Выделение тотальной ДНК производилось из пятен крови методом фенольно-хлороформной экстракции.

Исследуемая выборка в количестве 150 человек была представлена группой лиц, страдающих шизофренией. Биологический материал пациентов был предоставлен лаборатории нехромосомной наследственности сотрудниками РНПЦ Психического здоровья. В качестве контрольной выборки (102 человека) выступила группа условно психически здоровых индивидов, то есть лиц, не имеющих официального психиатрического диагноза и никогда не обращавшихся за помощью в учреждения здравоохранения, относящиеся к сфере оказания психиатрической помощи.

Генотипирование исследуемых образцов ДНК по полиморфному локусу rs1625579 гена MIR137 проводилось путем постановки количественной ПЦР в реальном времени с использованием метода TaqMan-проб.

Последовательность праймеров для амплификации полиморфного локуса rs1625579:

F: 5'- CCCTAGTTGAAAATATTTTC -3';

R: 5'- GGGTCACTATTATTTAACA -3'.

Последовательность TaqMan-проб, специфичных к определенным аллелям исследуемого локуса:

C-Probe: FAM 5'-TGTTAATCACAATTACATCAACTCAG-3' TAMRA;

A-Probe: HEX 5'-TGTTAATCACAATTAAATCAACTCAG-3' TAMRA.

Полимеразная цепная реакция проводилась с использованием амплификатора с оптическим модулем для ПЦР в реальном времени Agilent Mx3005P.

Стадии ПЦР-реакции: первичная денатурация – 5 мин при 95 °С; затем 10 циклов без детектирования уровня флуоресценции: денатурация – 15 с при 95 °С, отжиг проб и праймеров – 30 с при 58 °С, элонгация – 40 с при 72 °С; затем 35 циклов с детекцией уровня флуоресценции на стадии отжига: денатурация – 15 с при 95 °С, отжиг проб и праймеров – 30 с при 58 °С, элонгация – 40 с при 72 °С.

Статистический анализ данных производился с помощью программы SPSS Statistics 22.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ распределения частот аллелей локуса rs1625579 гена MIR137 среди пациентов, больных шизофренией, и здоровых людей приведен в Таблице 1.

Таблица 1

**Распределение частот аллелей полиморфного локуса rs1625579 гена MIR137
среди здоровых лиц и больных шизофренией**

Аллель	Группа пациентов	Контрольная группа	Расчётный уровень значимости (p); $\alpha=0,05$
T	77%	74%	p=0,459
G	23%	26%	

Полученные частоты аллелей в контрольной выборке указывают на высокую долю носительства Т-аллеля среди жителей Беларуси, что согласуется с данными европейских популяций [7].

Данные о распределении генотипов по локусу rs1625579 гена MIR137 в исследуемых выборках приведены в Таблице 2.

Таблица 2

**Распределение частот генотипов полиморфного локуса rs1625579 гена MIR137
среди здоровых лиц и больных шизофренией**

Генотип	Группа пациентов, % (чел.)	Контрольная группа, % (чел.)	Расчётный уровень значимости (p); $\alpha=0,05$	OR (95% CI)
TT	60,7% (91)	52,9% (54)	0,244	1,37 (0,82-2,28)
TG	32,7% (49)	42,2% (43)	0,143	0,67 (0,4-1,12)
GG	6,7 % (10)	4,9% (5)	0,787	1,39 (0,46-4,18)
N участников	150	102		

Примечание: OR-отношение шансов, CI- доверительный интервал.

Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов, а также комбинации генотипов (TT и TG+GG) по локусу rs1625579 гена MIR137 не выявил статистически значимых различий между пациентами с шизофренией и контрольной выборкой здоровых людей.

В результате трех крупномасштабных GWAS исследований с участием лиц европеоидной расы, была выявлена четкая статистически значимая связь локуса rs1625579 с шизофренией. Однако, в ряде повторных ассоциативных исследований (в основном китайских популяций) на выборках, не превышающих 1000 человек, данная связь не подтвердилась [8]. Можно предположить, что лимитирующим фактором для выявления связи локуса rs1625579 гена MIR137 с риском развития шизофрении может выступать малочисленность выборок. Неоднозначность ассоциации данного локуса с шизофренией может быть также обусловлена многофакторностью и гетерогенностью детерминант заболевания, что затрудняет выявление патогенности одиночного локуса.

Авторы выражают благодарность **Н.Г. Даниленко**.

Литература

1. *Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium*. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci // *Nature*. 2014. №511. P. 421–427.
2. *Yin J., Lin J., Luo X.* mir-137: a new player in schizophrenia // *International journal of molecular sciences*. 2014. №15. P. 3262–3271.
3. *Warburton A., Breen G., Bubb V.J., Quinn J.P.* A GWAS SNP for Schizophrenia Is Linked to the Internal MIR137 Promoter and Supports Differential Allele-Specific Expression. // *Schizophrenia Bulletin*. 2015. № 144. P.1–6.
4. *Liu B., Zhang X., Hou B., Li J.* The impact of MIR137 on dorsolateral prefrontal-hippocampal functional connectivity in healthy subjects // *Neuropsychopharmacology*. 2014. № 39. P.2153–2160.
5. *Guan F., Zhang B., Yan T., Li L.* MIR137 gene and target gene CACNA1C of MIR137 contribute to schizophrenia susceptibility in Han Chinese // *Schizophrenia Research*. 2014. №152. P.97–104.
6. *Patel V. S., Kelly S., Wright C.* MIR137HG risk variant rs1625579 genotype is related to corpus callosum volume in schizophrenia // *Neuroscience Letters*. 2015. № 602. P. 44–49.
7. Интернет-адрес:
http://browser.1000genomes.org/Homo_sapiens/Variation/Population?r=1:98502434-98503434;v=rs1625579;vdb=variation;vf=1146801.
8. *Hommers L.G., Domschke K., Deckert J.* Heterogeneity and individuality: microRNAs in mental disorders // *Journal of neural transmission*. 2015. №122. P.79–97.

СПОСОБНОСТЬ ПРИРОДНЫХ БАКТЕРИЙ СИНТЕЗИРОВАТЬ НАНОЧАСТИЦЫ СЕРЕБРА

В. В. Марукевич, А. Э. Охремчук, Е. С. Голомако, М. И. Чернявская

Способность к продукции наночастиц различных металлов бактериями является адаптивным механизмом в условиях критических концентраций ионов тяжелых металлов. В ионной форме металлы более реакционно способные и токсичные для клетки. Различные редуцирующие агенты внутри или вне клетки восстанавливают их катионы до нейтральных атомов, последние агрегируют с образованием наночастиц, проявляющих биоцидный эффект [1]. Цитотоксическое влияние наночастиц на микроорганизмы обусловлено их проникновением в клетку и нарушением структур клетки за счет поверхностного плазмонного резонанса и высвобождения ионов металла. В этом аспекте наночастицы серебра весьма привлекательны, поскольку могут рассматриваться в качестве альтернативы антибиотикам, резистентность к которым широко распространена среди патогенных микроорганизмов [2].