

*Бабенко А. С., Коленчионок А. Н., Готько О. В., Касило А. И.,  
Смирное С. Ю., Смолякова Р. М.*

## **ОПТИМАЛЬНЫЕ РЕФЕРЕНСНЫЕ ГЕНЫ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ УРОВНЯ ПРЕДСТАВЛЕННОСТИ ТРАНСКРИПТОВ В ТКАНЯХ КИШЕЧНИКА И ЖЕЛУДКА**

*Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской  
радиологии им. Н. Н. Александрова, г. Минск, Республика Беларусь*

Выбор оптимального референсного гена является одним из ключевых этапов проведения исследования уровня представленности транскриптов (оценке относительного уровня экспрессии генов) с использованием метода ПЦР в режиме реального времени. Увы, немногочисленные работы исследователей в этой области показывают, что многие экспериментаторы пренебрегают этим важным этапом при планировании работы. Наряду с этим, существует ряд работ, посвященным выбору референсных генов как для конкретных типов тканей и конкретных условий эксперимента, так и «универсальных» референсных генов.

**Цель:** оценить стабильность экспрессии генов ACTB, HPRT1, GAPDH, 7SLRNA1, RNA5-8S5, SCARNA5 и RNU12 в опухолевой и нормальной ткани кишечника и желудка.

**Материалы и методы.** В исследование включили образцы опухолевой ткани кишечника (n = 32) и желудка (n = 32) IIIA-B стадии, полученных от пациентов, проходивших лечение на базе РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александрова, а также образцы морфологически нормальной ткани кишечника

(n = 32) и желудка (n = 32). Общую фракцию РНК выделяли с помощью набора Recover All Total RNAqueous-4PCR Total RNA Isolation Kit (Ambion, США) согласно протоколу производителя. Обратную транскрипцию проводили с помощью набора реагентов High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Invitrogen, США) согласно протоколу производителя. ПЦР в режиме реального времени проводили с помощью набора Maxima Hot Start Taq DNA Polymerase (Fermentas, Литва). Реакцию проводили в формате TaqMan. Стабильность экспрессии генов оценивали с помощью программ BestKeeper, NormFinder и GeNorm.

**Результаты и обсуждение.** Установлено, что наибольшей стабильностью в ткани кишечника (n = 64) согласно данным анализа всех трёх программ являются гены GAPDH (1) и RNU12 (2), в то время как в ткани желудка (n = 64) согласно данным GeNorm наиболее стабильной парой являются гены HPRT1 (1) и RNU12 (2). По данным NormFinder RNU12 (1) и HPRT1 (2). По данными BestKeeper SCARNA5 (1) и RNU12 (2). При сравнении по обеим группам (n = 128): GeNorm — HPRT1 (1) и RNU12 (2), NormFinder — RNU12 (1) и HPRT1 (2), BestKeeper — RNU12 (1) и GAPDH (2).

**Выводы.** Выбор оптимальных референсных генов для каждого типа ткани и условий эксперимента повышает вероятность адекватной оценки относительного уровня экспрессии генов при использовании ПЦР в режиме реального времени.