

Миргазов Д.А., Осянин К.А., Хаммадов Н.И., Косарев М.А.
**Анализ распределения бруцелл в органах лабораторных
животных при гипериммунизации живым
бруцеллезным антигеном**

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной
и биологической безопасности», г. Казань, Россия

Возбудители инфекционных заболеваний после заражения организма сохраняются в различных органах. Определив место локализации биопатогена можно получить представление о стадии инфекционного процесса [1].

Целью данной работы являлось определение распределения бруцелл в организме лабораторных животных после гипериммунизации штаммом S19 *Brucella abortus*.

Эксперимент проводили на трех кроликах подверженных гипериммунизации вакцинным штаммом S 19, путем введения в ушную артерию. Для исследования брали части органов.

Для выделения дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) использовали набор «ДНК-сорб-В» производства ЦНИИ Эпидемиологии РФ, в соответствии с инструкцией по применению комплекта реагентов. Амплификация проводилась в режиме реального времени на амплификаторе С1000 с оптическим блоком CFX96. При исследовании были использованы 3 группы праймеров и зондов, дизайн был проведен по аналогичной методике, описанной в публикации [2]: первая группа олигонуклеотидных затравок определяет род бруцелл (канал Cy5), вторая и третья - виды *Brucella abortus* (канал ROX), *Brucella melitensis* (канал R6G), соответственно. Исползованные зонды имели различные флуоресцентные метки, что позволило провести мультипраймерную реакцию.

Состав реакционной смеси для полимеразной цепной реакции (ПЦР) в расчёте на 1 пробу: x10 ПЦР буфер (10mM Tris-HCl, 50mM KCl, 0,1% Triton-X100) – 1,5 мкл; 2,5 mM раствор dNTPs – 1,5 мкл; 10 пкМ раствор каждого праймера и зонда – по 1,5 мкл; Taq полимеразы – 0,5 мкл; 25 mM раствор MgCl₂ – 1,5 мкл; вода деионизированная – 3,5 мкл. В полученную реакционную смесь вносили 5 мкл препарата нуклеиновых кислот. Общий объём реакционной смеси составил 15 мкл. Протокол амплификации был следующий: 1-й цикл 95°C –

5 мин; 2-й цикл (95°C – 30 с., 60°C – 30 с.) 5 повторов; 3-й цикл (95°C – 12 с., 60°C – 35 с.) 42 повтора с детекцией на стадии 60 °С.

Интерпретация результатов амплификации производилась на основании выходных данных программного обеспечения «CFX Manager».

В результате проведенных исследований наблюдалось накопление во времени значений флуоресценции по каналам ROX, Cy5 и отсутствие флуоресценции по каналу R6G. Таким образом, было установлено присутствие бактерий в различных органах животных-продуцентов, и установлены их родовая и видовая принадлежность. Было показано, что в органах кроликов аккумулировались бактерии вида *Brucella abortus*. Максимальное количество бруцелл, зафиксировано в селезенке, подчелюстных и околоушных лимфоузлах. Это явилось следствием примененного антигена и места его введения, а также анатомо-физиологических особенностей кроликов и патогенеза возбудителя.

ПЦР обладает высокой специфичностью, что позволяет определить принадлежность возбудителя к роду *Brucella*, а также видам *B.abortus* и *B.melitensis*. Кроме того, ПЦР является одним из наиболее быстрых методов диагностики возбудителей инфекционных заболеваний.

Результаты применения полимеразной цепной реакции, позволяют рекомендовать данный метод для контроля локализации бруцелл в организме животных-продуцентов после гипериммунизации, а также индикации и идентификации бруцелл в анализируемом патологическом материале.

Литература

1. Хабибуллин Р.Р., Фомин А.М. Приживаемость, контагиозность и стабильность свойств культуры бруцелл вакцинного штамма *B. abortus* 82-sr при пассажах через организм морских свинок // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э.Баумана.2011. № 208.С.279
2. Khammadova A.V., Shuralev E.A., Khammadov N.I., Oumarou B.M., Faizov T.K., Mukminov M.N. Design of primers for identification of honey bee viruses in multiplex-PCR // *Astra Salvensis*. – 2017. – V. 5, Suppl. 1. – P. 481-489.

Мневец Д. В.¹, Дудко А.В.², Давидовский А. И.², Вересов В. Г.²

Исследование методом молекулярной динамики роли фосфорилирования метаксина-1 во VDAC2-Вак-опосредованном апоптозе

¹Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь

²ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», г. Минск, Беларусь

Апоптоз (запрограммированная физиологическая смерть клетки) является процессом, посредством которого осуществляется элиминирование потенциально опасных вредных эктопических, старых или поврежден-