

## ОПТИМИЗАЦИЯ ВЫДЕЛЕНИЯ РНК ИЗ СЛЮНЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ

*Глинкина Т.В., Костюк С.А., Полуян О.С.,  
Руденкова Т.В., Давидовский С.В.*

*ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»  
Минск, Беларусь*

*kuklitsk@mail.ru, s.kostiuk@mail.ru, olga.poluyan@mail.ru,  
t.rudenkova@mail.ru, davidouski@yandex.ru*

*Исследование экспрессии генов, ассоциированных с суицидальным поведением, представляет интерес для понимания нейробиологических основ суицида и выявления прогностических маркеров суицидального поведения. В последнее время возрастает интерес к выявлению маркеров нейropsychических расстройств при исследовании слюны, поскольку получение данного биологического материала является неинвазивным и безболезненным.*

*Ключевые слова: экспрессия генов, выделение РНК, слюна, суицид.*

## OPTIMIZATION OF RNA ISOLATION FROM SALIVA FOR GENE EXPRESSION ASSESSMENT

*Glinkina T.V., Kostiuk S.A., Poluyan O.S., Rudenkova T.V. Davidouski S.V.*

*Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education  
Minsk, Belarus*

*The study of the expression of genes associated with suicidal behavior is of interest for understanding the neurobiological basis of suicide and identifying predictive markers of suicidal behavior. Recently, there has been an increasing interest in identifying markers of neuropsychiatric disorders in saliva studies, since obtaining this biological material is non-invasive and painless.*

*Key words: gene expression, RNA isolation, saliva, suicide.*

**Введение.** Сорбция РНК на колонках относится к наиболее распространенным и эффективным методикам выделения и очистки РНК. Связанная с фильтрующими элементами колонок РНК очищается и подвергается действию ДНКазы для элиминирования контаминирующей ДНК. Этапу прохождения раствора, содержащего нуклеиновые кислоты, через колонку, предшествует лизис клеток исследуемого биологического материала. Данный этап является одним из ключевых в методике и в настоящем исследовании оптимизирован при выделении РНК из слюны. Добавление реагента TRIzol, лизирующего клетки, и экстракция РНК в присутствии хлороформа является известным методическим подходом для получения препарата РНК перед его очисткой [1].

**Цель исследования:** оптимизировать методику выделения РНК из слюны для оценки экспрессии генов.

**Материалы и методы.** При оптимизации методики выделения РНК из слюны использовали слюну 18 здоровых волонтеров (медиана возраста 38 лет), для сравнения экстракции РНК из слюны и крови исследовали 15 образцов крови волонтеров. Для выделения РНК из биологического материала применялась органическая экстракция с последующей спиртовой

преципитацией и выделение РНК с применением колонок с сорбирующей мембраной (АртРНК MiniSpin, АртБиоТех, Республика Беларусь).

**Результаты и их обсуждение.** Медиана концентрации РНК, полученной из крови, составила 15,3 нг/мкл, из слюны – 8,4 нг/мкл. Проведение с выделенной РНК обратной транскрипции и амплификации синтезированной кДНК показало пригодность полученной РНК для обратно-транскрипционной ПЦР (ОТ-ПЦР): Результат экспрессии референсного гена *HGUS* человека был положительным для образцов РНК, экстрагированных из крови и слюны, что указывает на возможность использовать слюну в качестве биологического материала для оценки экспрессии генов.

Состав слюны в значительной степени индивидуален, зависит от метода сбора слюны, скорости слюноотделения, степени гидратации организма и других факторов, что влияет на выбор методических подходов к пробоподготовке. Нами оптимизирована методика выделения РНК с применением колонок с сорбирующей мембраной, согласно которой 500 мкл слюны центрифугировали при 10 000g при 4°C, полученный осадок подвергали лизису с использованием смеси TRIzol-хлороформ или лизирующего буфера и последующей очистке на колонках. Слюну вязкой консистенции до этапа добавления TRIzol или лизирующего буфера обрабатывали муколитическим реагентом.

Сравнительный анализ показал, что концентрация РНК, полученной из осадка слюны, значимо выше (медиана 20,9 нг/мкл), чем при исследовании образца цельной слюны (медиана 5,7 нг/мкл),  $p < 0,05$ , пороговый цикл флюоресценции, характеризующей амплификацию кДНК референсного гена *HGUS* человека, наступал раньше при амплификации кДНК, синтезированной из РНК, выделенной из осадка слюны, чем из цельной слюны. Данный методический подход апробирован на образцах слюны пациентов с расстройством адаптации и самоповреждениями ( $n=28$ ). Медиана концентрации РНК составила 9,1 нг/мкл, результаты ОТ-ПЦР при оценке экспрессии гена *HGUS* человека были положительными.

**Заключение** Применение слюны в качестве биологического материала для оценки экспрессии генов целесообразно вследствие возможности выделения РНК, пригодной для проведения ОТ-ПЦР, и неинвазивности процедуры получения данного биологического материала. Оптимизирована методика выделения РНК на основе применения колонок с сорбирующей мембраной, согласно которой получают осадок центрифугированием слюны, для изменения вязкости слюны используют муколитический реагент, лизис клеток проводят с использованием реагентов TRIzol и хлороформ или лизирующего буфера. В итоге получена РНК, пригодная для ОТ-ПЦР по результатам оценки экспрессии гена *HGUS* человека.

### Список литературы

1. Guan, H. RNA isolation and real-time quantitative RT-PCR / H. Guan, K. Yang // *Methods in Molecular Biology*. – 2008. – Vol. 456. – P. 259-270. – doi:10.1007/978-1-59745-245-8\_19.