

Применение молекулярно-генетического анализа для выявления инфекций в древних захоронениях

Выполнила: студентка биолого-почвенного фак., 3 курса, гр.190 Казакова Ю. П.

Научный руководитель: к.б.н., с.н.с. Тухбатова Р. И.

Актуальность

Детекция и характеристика ДНК – это наиболее широко используемый метод для изучения древних патогенов. Методика может быть применена к различным видам образцов, в том числе экологических, носителей инфекций и образцов животного резервуара, а также человеческих трупов.

Прямое обнаружение остатков ДНК патогенных микроорганизмов с древнейших скелетов человека с использованием ПЦР становится мощным молекулярным инструментом и дает неоценимый инструмент для реконструкции временных и географических путей распространения инфекций в человеческой истории.

Основными возбудителями заболеваний человека в древности считаются *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*, *Yersinia pestis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Treponema pallidum* и др.

Цель и задачи

Цель работы – детекция возбудителей заболеваний человека в древних захоронениях с помощью молекулярно-генетического анализа.

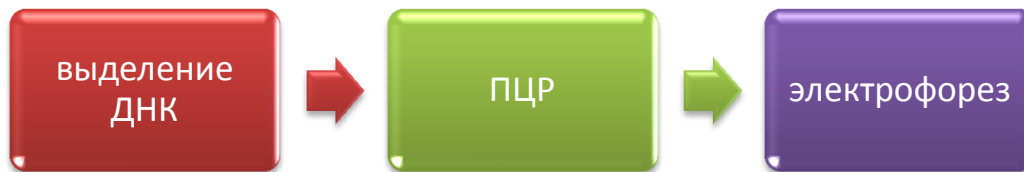
Задачи исследования:

1. Выделить ДНК из костей в древних захоронениях.
2. Оценить качество выделенной ДНК методом электрофореза и спектрофотометрическим методом.
3. Провести ПЦР для выявления *Mycobacterium tuberculosis complex*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Treponema pallidum* и оценить продукты амплификации.

Объекты исследования

Образцы костей человека из г. Булгар (10-14 вв., Спасский р-н, Р.СЛИV(154), погр. 1, 7, 9, 10), из Старокуйбышевского могильника, домонгольский и золотоордынский периоды, из Мавзолея Казанского кремля – всего 15 образцов.

Схема эксперимента



Для выделения ДНК из костей использовали набор QIAamp DNA Investigator (QIAGEN, Нидерланды).

Для выявления *Mycobacterium tuberculosis complex* использовали коммерческий набор «АмплиСенсМБТ-EPH»; для *Corynebacterium diphtheriae* – «АмплиСенс Corynebacterium diphtheriae-EPH»; для *Treponema pallidum* – «АмплиСенс Treponema pallidum-EPH» (ИнтерлабСервис, Москва).

Для очистки ПЦР-продуктов применяли коммерческий набор MinElute PCR Purification Kit (QIAGEN, Нидерланды).

Результаты исследований

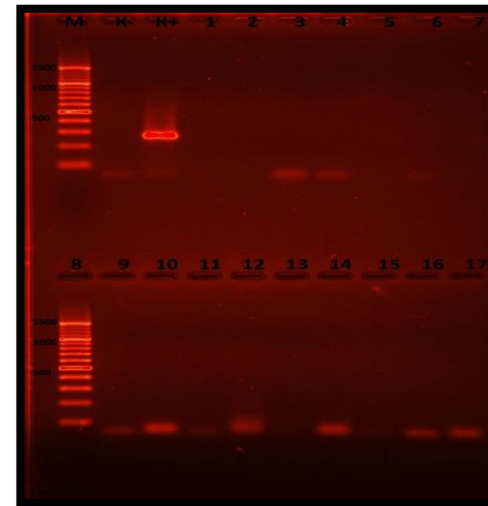


Рис. 1. Электрофорез ПЦР-продуктов *T. pallidum* в 1.5% агарозном геле: М – маркер, К+, К- – контроли, 1-17 – ПЦР-продукты (размер 273 п. н.).

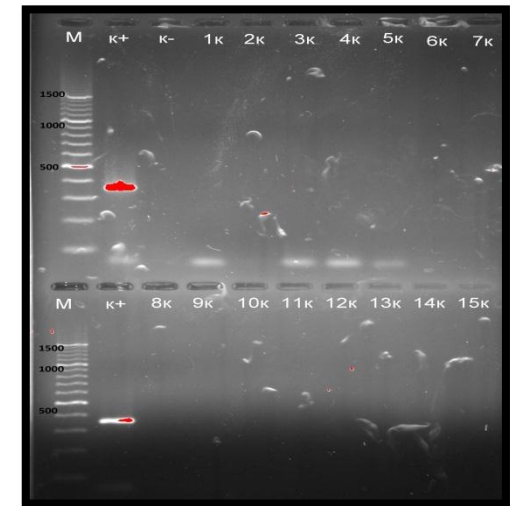


Рис. 2. Электрофорез ПЦР-продуктов *C. diphtheriae* в 1.5% агарозном геле: М – маркер, К+, К- – контроли, 1к-15к – ПЦР-продукты (размер 360 п.н.).

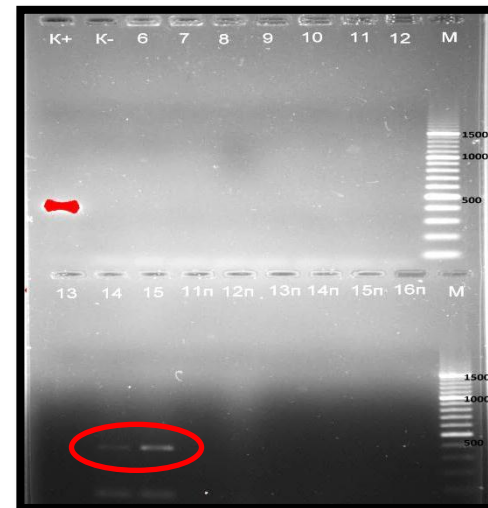


Рис. 3. Электрофорез ПЦР-продуктов *M. tuberculosis complex* в 1.5% агарозном геле: М – маркер, К+, К- – контроли, 6-16п – ПЦР-продукты (размер 390 п.н.).

Выводы

1. Из 15 образцов костей была выделена геномная ДНК.
2. Оценка качества ДНК показало ее хорошее качество, концентрации составили 4.1-219.9 нг/мкл.
3. Методом ПЦР в 2 образцах были выявлены представители *M. tuberculosis complex*, *Corynebacterium diphtheriae* и *Treponema pallidum* в ДНК исследованных образцов обнаружены не были.

Исследования проведены в рамках гранта РФФИ–11-04-00805-а и темы КФУ «Комплексные историко-археологические и естественнонаучные исследования объектов культурного наследия».

