

животных можно оптимизировать за счет использования методов биоинформатики.

2. Сравнительный анализ показал ортологичность десяти киназ, важных с точки зрения лечения рака, у человека и некоторых животных.

3. Был определен спектр существующих малых молекул - ингибиторов изученных киназ, обсужден опыт применения мультикиназных ингибиторов при лечении онкозаболеваний человека с использованием таргентных препаратов, прошедших доклинические испытания на мишенях животных. Такие лекарства будут особо актуальны при лечении опухолей устойчивых к воздействию лекарства, направленных только на одну мишень.

4. На основе сравнения данных о строении белков и имеющихся результатов применения ингибиторов киназ, показана возможность подбора наиболее подходящих объектов для проведения доклинических испытаний противораковых препаратов.

#### **Список источников**

1. Attwood M. Trends in kinase drug discovery: targets, indications and inhibitor design / M. Attwood [и др.] // Nature Reviews Drug Discovery. – 2021. – Vol. 20. – P. 839-861.
2. Cicenas J. Kinases and Cancer / J. Cicenas [и др.] // Cancers. – 2018. – Vol. 10, № 3. – P. 63. – DOI: 10.3390/cancers10030063.
3. Schneider G. Automating drug discovery / G. Schneider // Nature Reviews Drug Discovery. – 2018. – Vol. 17. – P. 97–113.
4. Boratyn G. BLAST: a more efficient report with usability improvements / G. Boratyn [и др.] // Nucleic Acids Research. – 2013. – Vol. 41. – Текст : электронный. – DOI: 10.1093/nar/gkt282.
5. Okonechnikov K. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit / K. Okonechnikov [и др.] // Bioinformatics. – 2012. – Vol. 28. – P. 1166-1167.
6. Kim S. PubChem 2023 update / S. Kim [и др.] // Nucleic Acids Research. – 2023. – Vol. 51. – Текст : электронный. – DOI: 10.1093/nar/gkac956.
7. Охтин Г.Ю. Сравнительный анализ молекул целевых цитотоксических киназ человека, пригодных для лечения онкозаболеваний животных / Г.Ю. Охтин, П.Н. Абрамов, О.А. Киселева, А.Д. Поспелов // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2024. – № 11, Т. 2. – С. 13–21. – DOI: 10.36871/[vet.zoo.bio.202411202](https://doi.org/10.36871/vet.zoo.bio.202411202).

#### **Сведения об авторах**

\*Г.Ю. Окшин - учащийся

О.А. Киселева, кандидат биологических наук, доцент

#### **Information about the authors**

\*Y. Okshin - student

O.A. Kiseleva - Candidate of Biological Sciences, Associate Professor

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

gleboksina@gmail.com

УДК: 577.21

## **РАЗРАБОТКА МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ПЦР ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ АНАЛИЗА УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ПРОТООНКОГЕНОВ MUC16 И HE4**

Погосян Мариам Артаковна<sup>1</sup>, Бехтер Алексей Андреевич<sup>2</sup>

<sup>1</sup>МАОУ Гимназия №108 им В.Н. Татищева

<sup>2</sup>Педиатрический факультет

ФГБОУ ВО «Уральский Государственный Медицинский Университет» Минздрава России  
Екатеринбург, Россия

#### **Аннотация**

**Введение.** Метод ПЦР применяется в медицинской диагностике для выявления инфекционных и наследственных заболеваний. Мультиплексная ПЦР анализирует несколько участков ДНК одновременно. В онкологии она позволяет диагностировать рак на ранних стадиях, облегчая лечение. Гены MUC16 и HE4, чья повышенная экспрессия коррелирует с раком яичников, выявляются с помощью ПЦР на ранних стадиях, повышая эффективность лечения. **Цель исследования.** Разработка in silico ПЦР тест-системы для выявления уровня экспрессии генов MUC16 и HE4. **Материалы и методы.** В in silico разработке ПЦР тест-системы использованы FASTA-последовательности генов MUC16 и HE4 из базы NCBI Nucleotide. В Geneious Prime 2024.0.7 проведена структурная аннотация генов с определением открытых рамок считывания и экзонов, разработаны праймеры, соответствующие требованиям. Аналогично разработаны зонды, соответствующие основным требованиям. **Результаты.** В результате разработки in silico ПЦР тест-системы в программе Geneious Prime были установлены рамки считывания искомым генов, определены последовательности экзонов и разработаны праймеры и зонды для генов HE4 и MUC16. **Выводы.** Синтезированы праймеры и зонды для двух генов, соответствующие требованиям ПЦР-тест-системы. Выбраны гены-нормализаторы для корректной работы. Система, разработанная

с помощью компьютерных методов, готова к практическому применению. Метод тестирования проще традиционных, не требующих отдельных анализов для каждого гена.

**Ключевые слова:** протоонкоген, ПЦР, праймер, зонд.

## DEVELOPMENT OF A MULTIPLEX PCR TEST-SYSTEM FOR ANALYZING THE EXPRESSION LEVELS OF PROTO-ONCOGENES MUC16 AND HE4

Pogosyan Mariam Artakovna<sup>1</sup>, Bekhter Alexey Andreevich<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Gymnasium No. 108

<sup>2</sup>Pediatric faculty

Ural State Medical University

Yekaterinburg, Russia

### Abstract

**Introduction.** The PCR method is used in medical diagnostics to detect infectious and hereditary diseases. Multiplex PCR analyzes several sections of DNA simultaneously. In oncology, it allows you to diagnose cancer at an early stage, facilitating the treatment of cancer. The MUC16 and HE4 genes, whose increased expression correlates with ovarian cancer, are detected by PCR at an early stage, increasing the effectiveness of treatment. **The aim of the study.** This work aims to develop an in silico PCR test system for detecting the expression levels of the genes MUC16 and HE4, which are among the main biomarkers for epithelial ovarian cancer. **Materials and methods.** In silico development PCR test systems used FASTA sequences of the MUC16 and HE4 genes from the NCBI Nucleotide database. In Geneious Prime 2024.0.7, structural annotation of genes was performed with the definition of open reading frames and exons, primers were developed that meet the requirements of. Similarly, probes that meet the basic requirements of the standard have been developed. **Results.** As a result of development in silico PCR test systems in the Geneious Prime program, reading frames for the desired genes were established, exon sequences were determined, and primers and probes for the HE4 and MUC16 genes were developed. **Conclusions.** Primers and probes for two genes that meet the requirements of the PCR-test system were synthesized. The normalizer genes were selected for correct operation. The system developed using computer methods is ready for practical use. The testing method is simpler than traditional methods, which do not require separate tests for each gene.

**Keywords:** proto-oncogene, PCR, primer, probe.

### ВВЕДЕНИЕ

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) - это метод, используемый в молекулярной биологии для амплификации ДНК, позволяющий проводить быстрый анализ экспрессии генов. В настоящее время ПЦР является быстрым и надежным методом диагностики различных наследственных и инфекционных заболеваний. На данный момент, одним из самых значимых видов проведения ПЦР является Мультиплексная ПЦР. Способность мультиплексной ПЦР анализировать несколько участков ДНК одновременно позволяет получать несколько результатов за один цикл анализа [1]. Это экономит время и реактивы [2]. Мультиплексная ПЦР может быть полезна в диагностике, например, при недостатке биологического материала или в экстренных клинических ситуациях [3]. У ПЦР есть ряд альтернативных методов, например: LAMP (Опосредованная образованием петель изотермическая амплификация), Хеликазозависимая амплификация, Рекомбиназная полимеразная амплификация. Однако на данный момент ПЦР является наиболее изученным и эффективным методом.

В России наибольший удельный вес в структуре онкологической заболеваемости женщин имеют злокачественные новообразования органов репродуктивной системы. Злокачественные новообразования яичников (ЗНЯ) выделяют как одно из тех заболеваний, которое чаще всего обнаруживается именно на последних стадиях (III, IV) . Наибольшая заболеваемость ЗНЯ в России наблюдается среди женщин наблюдается в период с 55 до 75 лет, часто это явление связывают с постменопаузой [4], [5]. Поздняя диагностика данного заболевания может привести к трудностям в процессе лечения, что повышает неблагоприятные риски [6]. Однако на данный момент установлены гены, экспрессия которых может свидетельствовать о наличии злокачественного опухолевого заболевания яичников, MUC16 (CA125) и HE4 (WFDC2), которые при совместном анализе способны давать наиболее точные результаты наличия данного заболевания [6]. Метод ПЦР может быть использован для

выявления экспрессии данных генов, а также, в последствии, диагностики злокачественных опухолевых заболеваний на ранних стадиях, что повышает эффективность их лечения в дальнейшем.

**Цель исследования** - данная работа направлена на разработку *in silico* ПЦР-тест системы для выявления уровня экспрессии генов MUC16 и HE4, которые являются одним из основных биомаркеров эпителиального рака яичников

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В рамках *in silico* разработки ПЦР тест-системы из базы NCBI Nucleotide были взяты FASTA-последовательности (FASTA - текстовый формат, используемый для представления нуклеотидных или полипептидных последовательностей, в котором нуклеотиды или аминокислоты обозначаются однобуквенными кодами) искомым генов (MUC16 и HE4). В ПО Geneious Prime 2024.0.7 была проведена структурная аннотация генов: установлены открытые рамки считывания(CDS), последовательности экзонов (кодирующих участков) обоих генов.

При помощи Geneious Prime был осуществлен дизайн праймеров, соответствующих рекомендуемым параметрам: Длина: 17-27 нуклеотидов; температура плавления: около 50-65 °С; Гуанин-цитозинное соотношение около 40-60%. Далее была осуществлена проверка полученных праймеров при помощи интернет-ресурса IDT DNA на самодимеризацию и образование димеров между собой (Димеризация праймеров – образование вторичных структур, что затрудняет работу ПЦР тест-системы).

Проектирование зондов также было осуществлено в Geneious Prime в соответствии с основными требованиями к зондам: Длина: 18-30 нуклеотидов, температура плавления (Tm) на 10°C выше, чем у соответствующих праймеров, Гуанин-цитозинный состав в диапазоне 30-80%.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате разработки *in silico* ПЦР тест-системы в программе Geneious Prime:

1. Были установлены рамки считывания искомым генов
2. Установлены последовательности экзонов
3. Разработаны праймеры и зонды для генов HE4 (рис.1) и MUC16 (рис.2), соответствующие основным требованиям к праймерам

Требования для праймеров

1. Длина (Length): 17-27 нуклеотидов
2. Температура плавления (Tm): около 50-65 С.
3. Гуанин-цитозинное соотношение (%GC): около 40-60%

Требования для зондов:

1. Длина (Length): 18-30 нуклеотидов
2. Гуанин-цитозинное соотношение (%GC): 30-80%

Температура плавления (Tm) выше температуры плавления праймеров на 10 градусов.

Name	Type	Sequence	Minimum	Maximum	Length	Direction	Sequence (with extension)	%GC	Self Dimer Tm	Tm ^
reverse	primer_bind	ACTCTTGCGTGCAGTTCT	157	174	18	reverse	ACTCTTGCGTGCAGTTCT	50.0	None	56.8
forward	primer_bind	GTTCCGGCTTCACCTAGTC	86	104	19	forward	GTTCCGGCTTCACCTAG...	57.9	None	57.6
probe	DNA probe...	CAGGCACAGGAGCAGAGAAGACTG	106	129	24	forward		58.3	None	64.9

Рис.1 HE4

Name	Type	Sequence	Minimum	Maximum	Length	Direction	Sequence (with extension)	%GC	Self Dimer Tm	Tm ^
reverse	primer_bind	CGTGGAATTCCTTGTGCT	10,178	10,196	19	reverse	CGTGGAATTCCTTGTGCT	47.4	16.3	56.1
forward	primer_bind	CCTTGGTTGAAACAAGTATGG	10,120	10,141	22	forward	CCTTGGTTGAAACAAGT...	45.5	13.1	58.0
probe	DNA probe...	CCTGGCTTGACATCTTATGGTGTCA...	10,148	10,176	29	reverse		48.3	0.9	66.6

Рис.2 MUC16

На основании научной базы данных статей NCBI были найдены гены-нормализаторы, которые применяются для сравнительного анализа экспрессии генов в различных тканях и клетках. Это позволит определить наиболее характерные и типичные значения экспрессии для соответствующих биологических объектов. В данном случае были установлены гены: GAPDH, 18s rRNA, B-actin.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Разработка мультиплексной ПЦР-тест-системы для одновременного анализа нескольких генов соответствует современным тенденциям в молекулярной диагностике, где стремятся к увеличению эффективности и сокращению времени анализа [2], [3].

Преимущества:

1. Мультиплексная ПЦР позволяет определить сразу несколько последовательностей нуклеотидов, добавляя в одну пробирку с ДНК-матрицей набор праймеров для одновременной амплификации нескольких фрагментов. Что обеспечивает экономию реагентов и времени [2].
2. ПЦР позволяет выявлять генетические изменения в опухолевых клетках, что помогает в ранней диагностике и оценке риска развития рака.
3. Этот метод также используется для мониторинга эффективности лечения и выявления минимальной остаточной болезни [6].

Недостатки:

1. Мультиплексная ПЦР-диагностика имеет недостатки, связанные с необходимостью точного соответствия праймеров и возможностью помех при смешивании различных праймеров [1].
2. ПЦР — это высокоспецифичный метод, требующий заранее известной цели исследования. Это означает, что метод эффективен только для выявления конкретных, известных мутаций или генетических маркеров [1].
3. Как и в других областях, в онкологии существует риск получения ложноположительных результатов при использовании ПЦР. Это может привести к ненужным дополнительным обследованиям и стрессу для пациента [6].

Однако данные погрешности в работе мультиплексной ПЦР тест-системы позволяет исключить использование генов-нормализаторов. Использование генов-нормализаторов, таких как GAPDH, 18s rRNA и B-actin, является общепринятой практикой для коррекции вариаций в экспрессии генов [7]. Однако, как показывают исследования, выбор генов-нормализаторов должен быть тщательно обоснован для каждого конкретного случая, так как их экспрессия может варьировать в зависимости от типа ткани, стадии заболевания и экспериментальных условий [7].

## ВЫВОДЫ

1. Были получены последовательности праймеров и зондов двух генов, соответствующих главным требованиям по разработке.
2. Найдены соответствующие гены-нормализаторы для исправной работы ПЦР тест-системы.
3. Разработанная *in silico* ПЦР тест-система является готовой и полностью рабочей для последующей реализации.
4. Разработанный тест предлагает упрощенный подход по сравнению с традиционными методами, которые требуют отдельных анализов для каждого гена.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Hernandez-Rodriguez, P. Polymerase chain reaction: types, utilities and limitations. In: Polymerase chain reaction / P. Hernandez-Rodriguez, A.G. Ramirez. – Rijeka, Croatia : University of Rijeka, 2012. – 520 p.
2. Zamanian, M. Multiplex PCR Assay for the Simultaneous Detection of the Brucella Genus in Human Whole Blood and Serum / M. Zamanian, E. Jahani, H. Mahmoudi // The Open Microbiology Journal. – 2020. – Vol. 59, № 21. – P. 242-246.
3. Multiplex PCR for skin fungal infections: the diagnostic reliability in a one-year non-interventional study / L. Trovato, M. Calvo, M. Domina [et al.] // Medical mycology. – 2023. – Vol. 61, № 9. – P. 31-37.
4. Злокачественные новообразования в России в 2023 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А.Д. Каприна [и др.]. – Москва : МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2024. – 276 с.
5. Stewart Ovarian Cancer: An Integrated Review / C. Stewart, C. Ralyea, S. Lockwood // Seminars in Oncology Nursing. – 2019. – Vol. 35, № 2. – P. 151-156.
6. Roles of CA125 in diagnosis, prediction, and pathogenesis of ovarian cancer / M. Zhang, S. Cheng, Y. Jin [et al.] // Reviews on Cancer. – 2021. – Vol. 1875, № 2. – P. 921-29.
7. Evaluation of the Housekeeping Genes  $\beta$ -Actin, Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase, and 18S rRNA for Normalization in Real-Time Polymerase Chain Reaction Analysis of Gene Expression in Human Adipose Tissue / R. Ebrahimi, A. Bahador, N. Jannat Alipour [et al.] // Medical laboratory sciences. – 2020. – Vol. 4, № 3. – P. 1-8.

## Сведения об авторах

М.А. Погосян\* – учащаяся

А.А. Бехтер – студент

## Information about the authors:

M.A. Pogosyan\* - Student

A.A. Bekhter - Student

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

mariam.pogosyann@bk.ru

УДК: 612.8

## ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ВЫБОР ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ СТАРШЕКЛАССНИКАМИ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ СФОРМИРОВАНИЯ ЗДОРОВЫХ ПИЩЕВЫХ ПРИВЫЧЕК

Попова Юлия Владимировна<sup>1</sup>, Фролова Людмила Яковлевна<sup>1</sup>, Никандрова Елена Александровна<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Муниципальное автономное общеобразовательное учреждение Гимназия № 35, г. Екатеринбург, Россия

### Аннотация

**Введение.** Сенсорные системы организма человека обеспечивают обнаружение, различение и опознание сигналов внешнего мира и формирование образов. В современном мире высоких технологий в условиях постоянного выбора человек основывается на рецепторных ощущениях, но этот выбор не всегда верный. Изучение выявления факторов, влияющих на выбор человеком продуктов питания, является актуальным направлением исследований. **Цель исследования** - выявить факторы, влияющие на выбор продуктов питания старшеклассниками с различным уровнем сформированности здоровых пищевых привычек. **Материал и методы.** Объектом исследований выступают учащиеся 10-11 классов. Предмет исследований – уровень сформированности здоровых пищевых привычек у старшеклассников. Методы: теоретический анализ, аналитический метод, тестирование, сравнительный, метод сопоставления данных, метод визуализации данных, оценка органолептических показателей, статистическая обработка. Материалы исследования: результаты тестирования старшеклассников (визуальный выбор картинок и органолептические показатели сока). **Результаты** - старшеклассники с высоким уровнем сформированности здоровых пищевых привычек осуществляют выбор продуктов питания, основываясь в большей степени на визуальную оценку (на свой собственный жизненный опыт), в меньшей – на вкусовое восприятие (органолептические показатели). Низкий уровень сформированности пищевых привычек отмечен у 40% участников, средний – у 47,0%. К ним относятся школьники, которые нарушают режим приема пищи, употребляют увеличенное количество сахара и соли, продукты с усилителями вкуса и красителями и пр. **Выводы.** Основными фактором, влияющим на выбор продуктов питания, являются привычный рацион питания и личный опыт, а также внешний вид пищевых продуктов и их вкус. Следует отметить, что у людей с плохо сформированными привычками здорового питания (низкий уровень УПП) данные факторы могут служить сдерживающими при выборе более полезных продуктов. **Ключевые слова:** сенсорная система, восприятие вкуса, продукты питания, органолептические показатели.

## FACTORS INFLUENCING THE CHOICE OF FOOD BY HIGH SCHOOL STUDENTS WITH DIFFERENT LEVELS OF FORMATION OF HEALTHY EATING HABITS

Yulia V. Popova, Lyudmila Y. Frolova, Elena A. Nikandrova

Municipal Autonomous Educational Institution Gymnasium No. 35

Yekaterinburg, Russia

### Annotation

**Introduction.** The sensory systems of the human body provide detection, discrimination and identification of signals from the outside world and the formation of images. In the modern world of high technology, in conditions of constant choice, a person is based on receptor sensations, but this choice is not always correct. The study of identifying factors influencing a person's choice of food is an urgent area of research. **The aim of the study** is to identify the factors influencing the choice of food by high school students with different levels of formation of healthy eating habits. **Material and methods.** The object of research is students in grades 10-11. The subject of research is the level of formation of healthy eating habits in high school students. Methods: theoretical analysis, analytical method, testing, comparative, data comparison method, data visualization method, evaluation of organoleptic parameters, statistical processing. Research materials: test results of high school students (visual selection of pictures and organoleptic indicators of juice). **Results** -