

Литература

1. Рахимжанов Ж.А. и др. Методы выведения новых пород и типов овец и коз в Казахстане. Журнал « Исследования и результаты» №4, 2004, С.111-118
2. Мирзабеков С.Ш., Ерохин А.И. Овцеводство, Алматы, 2005, 512с.
3. Эйдригевич Е.В., Раевская В.В. Интерьер сельскохозяйственных животных М., 1978г., С. 249.

**ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЙ ДНК-СЕНСОР НА ОСНОВЕ УГЛЕРОДНЫХ
НАНОТРУБОК ДЛЯ ГЕНОМНОЙ СЕЛЕКЦИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ
ЖИВОТНЫХ**

Крылова Н.Г.¹, к.ф.-м.н., Грушевская Г.В.²,
к.ф.-м.н., ¹БГАТУ, ²БГУ, г. Минск, Республика Беларусь

Развитие молекулярных биотехнологий открывает широкие перспективы в усовершенствовании и внедрении новых методов селекции сельскохозяйственных животных. Так, в последние годы, особое внимание исследователей привлекают методы маркерной селекции крупного рогатого скота [1]. Например, в [2] разрабатывались и внедрялись технологии геномного анализа крупного рогатого скота по однонуклеотидным полиморфизмам, оценивалась эффективность использования генов бета-лактоглобулина, пролактина и гормона роста в маркерной селекции крупного рогатого скота белорусской черно-пестрой породы для повышения хозяйственно полезных признаков молочной продуктивности животных. Однако, несмотря на развитие стандартных технологий секвенирования и широкое распространение ПЦР, эти методы остаются достаточно трудоемкими и затратными.

Развитие оптических и электрохимических ДНК-сенсоров, основанных на использовании наноматериалов, является многообещающим. Они демонстрируют высокую чувствительности, низкую стоимость и возможности миниатюризации. Так, электрохимическая импедансная спектроскопия с использованием современных ДНК-сенсоров с электродами Si/SiO₂ wafer/SWCNT/AuNP, в покрытие которых включены одностенные углеродные нанотрубки (SWCNT, одностенные УНТ) и золотые наночастицы (AuNP), имеет предельную чувствительность вплоть до 10 зептоМ (зМ, 10⁻²¹ М) (для модельных олигонуклеотидов из 10 азотистых оснований) [3].

Уникальные электрофизические свойства углеродных наноструктур можно применять для разработки метода одномолекулярного детектирования мутаций генома (мутаций в ДНК) на явлении поверхностно-усиленного рассеяния света в результате поверхностного плазмонного резонанса и эффектах экранирования в квантовых материалах: графене с металлическими наночастицами, углеродных нанотрубках, графеноподобных монослоях на нанопористом анодном оксиде алюминия (АОА) [3, 4].

Преимущество электрохимических ДНК-сенсоров нефарадеевского типа заключается в возможности детектирования гибридизации ДНК без меток, что значительно снижает их стоимость и позволяет унифицировать их производство. Разрабатываемый нами нефарадеевский ДНК-наносенсор детектирует сигнал связывания олигонуклеотидного ssДНК-зонда с dsДНК-мишенью и представляет встречно-штыревую систему алюминиевых электродов (рисунк 1а), которые изолированы тонким диэлектрическим слоем нанопористого АОА и монослоями наноциклических комплексов высокоспинового октаэдрического железа Fe(II) с дитионил-пирроловыми лигандами (Fe(II)DTP). ЛБ-монослой Fe(II)DTP изготавливались нанотехнологией Ленгмюра–Блоджетт (ЛБ). Многостенные УНТ (МУНТ), предварительно функционализированные молекулами ДНК-зонда, декорировались металлоорганическими ЛБ-комплексами Fe(II)DTP. Сформированные из комплексов Fe(II)-декорированные МУНТ/ДНК-зонд ЛБ-монослой являются трансдьюсером сигнала гибридизации [5]. ДНК-наносенсор включается в качестве емкости в RC-автогенератор. Экспериментально измеряется частота квазирезонанса, которая прямо пропорциональна емкости ДНК-сенсора.

Гибридизация комплементарной ДНК-мишени с ДНК-зондом в чувствительном слое приводит к проникновению высвободившейся ssДНК через нанопоры Fe(II)DTP-монослоя в нанопористый АОА с последующим связыванием отдельных МУНТ молекулами ДНК в высокопроводящую сеть, как показано на рисунке 1б. Детектирование целевой последовательности основывается на эффекте экранирования приэлектродного двойного слоя Гельмгольца, приводящего к уменьшению электрической емкости C_{dl} двойного слоя. Изменения в сопротивлении или емкости двойного приэлектродного слоя индуцируются гибридизацией ДНК-мишени с одноцепочечной зондовой ДНК, адгезированной на УНТ и расположенной в приэлектродной области.

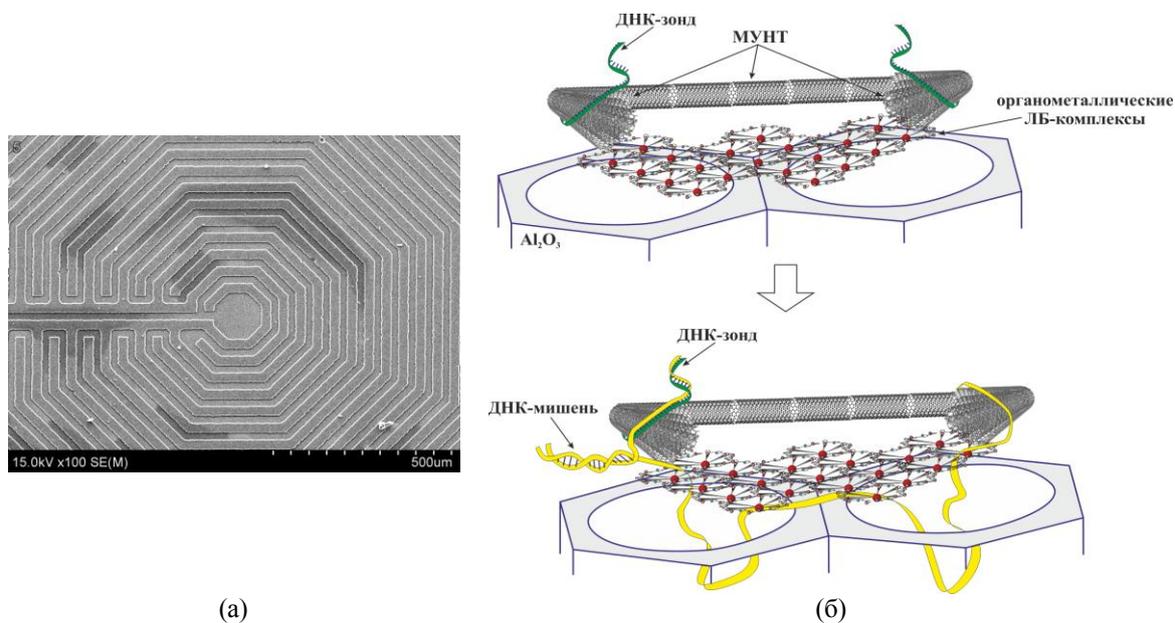


Рисунок 1 – (а) Встречно-штыревая структура электродов сенсора, (б) механизм одномолекулярного секвенирования на МУНТ, декорированных расположенными на нанопорах АОА органометаллическими ЛБ-комплексами

Образование комплементарных дуплексов ssДНК-зонда с dsДНК-мишенью приводит к появлению кольцевых диамагнитных токов из-за формирования водородных связей. Магнитный момент диамагнитных токов выстраивается по магнитному полю в наноциклических Fe(II)-комплексах, соответственно увеличивая значение спиновой поляризации токов носителей заряда в МУНТ. В результате степень экранирования электродов сенсора возрастает. Из-за эффекта “экранирования” электрическая емкость слоя Гельмгольца падает.

Экспериментально показано, что вышеописанный ДНК-наносенсор способен регистрировать однонуклеотидной замены в целевой ДНК последовательности [6].

Таким образом, предложенный электрохимический ДНК-сенсор на основе углеродных нанотрубок, декорированных железосодержащими наноциклическими комплексами, является перспективным для разработки новых методов геномной селекции сельскохозяйственных животных.

Литература

1. Beuzen, N.D. Molecular markers and their use in animal breeding / N.D. Beuzen, M.J. Stear, K.C. Chang // *Veterinary Journal* – 2000. – Vol. 160. – P. 42–52.
2. Влияние комплексных генотипов по генам бета-лактоглобулина, про-лактинина и гормона роста на молочную продуктивность коров белорусской черно-пестрой породы / О.А. Епишко [и др.] // *Генетика и разведение животных*. Санкт-Петербург. – 2017. – № 3. – С. 58-68.
3. Abdul Rasheed, P. Carbon nanostructures as immobilization platform for DNA: A review on current progress in electrochemical DNA sensors / P. Abdul Rasheed, N. Sandhyarani // *Biosens. Bioelectron.* – 2017. – Vol. 97. – P. 226–237.

4. Single nucleotide polymorphism genotyping using DNA sequencing on multiwalled carbon nanotubes monolayer by CNT-plasmon resonance / H.V. Grushevskaya [et al.] // *Int. J. Mod. Phys. B.* – 2018. – Vol. 32. – Paper 1840033. 10 p.
5. Одномолекулярное EIS-секвенирование ДНК на композитах нанопористых структур: достижения и перспективы / Г. Грушевская [и др.] // *Наука и инновации* – 2019. – Т. 194, № 4. – С. 23–28.
6. High-performance sensing of DNA hybridization on surface of self-organized MWCNT-arrays decorated by organometallic complexes / V. P. Egorova [et al.] // In: *Bioinformatics Research and Applications. Lecture Notes in Computer Science*, vol. 9683: proceedings of the Int. Conf. ISBRA, Minsk, 2016, / eds.: A. Bourgeois, P. Skums, X. Wan, A. Zelikovsky – Springer, Cham, 2016. – P. 52–66.

УДК 631.53.011:635.757

КАЧЕСТВЕННЫЙ ПОСЕВНОЙ МАТЕРИАЛ – ВАЖНЫЙ АСПЕКТ УСПЕШНОГО ВОЗДЕЛЫВАНИЯ ФЕНХЕЛЯ ОБЫКНОВЕННОГО

Макуха О.В., к.с.-х.н., доцент
ХГАУ, г. Херсон, Украина

Фенхель обыкновенный – ценное эфиромасличное, лекарственное, пряновкусовое, медоносное растение. В Украине его традиционно культивируют в западных областях, которые характеризуются умеренным климатом, благоприятным температурным режимом и достаточным количеством осадков [1].

В последние годы в связи с развитием фармацевтической, парфюмерно-косметической и других отраслей промышленности возникла необходимость увеличения производства плодов фенхеля обыкновенного, расширения традиционных границ его возделывания и интродукции в новые регионы, в частности в зону южной Степи Украины.

Увеличение посевных площадей фенхеля обыкновенного невозможно без обеспечения хозяйств региона семенами с высокими посевными качествами. Проблема высококачественного посевного материала актуальна при возделывании всех сельскохозяйственных культур и особенно фенхеля, что связано с особенностями семян (плотная семенная оболочка, мелкие семена, низкая всхожесть и энергия прорастания), а также их дефицитом в результате локального размещения посевных площадей.

Для определения лабораторной всхожести, энергии прорастания, динамики прорастания и поглощения влаги, влияния сроков хранения на посевные качества семян фенхеля проводили лабораторные исследования на кафедре ботаники и защиты растений Херсонского государственного аграрного университета.

Посевные качества семян определяли, используя методики [2-4]. Семена проращивали в чашках Петри на влажной фильтровальной бумаге при переменной суточной температуре: 20°C в течение 18 часов, 30°C в течение 6 часов. Энергию прорастания определяли через 6 дней, всхожесть – через 14 дней проращивания.

Семена фенхеля обыкновенного представлены полуплодиками (односемянками) и плодами (двусемянками). Масса 1000 односемянков превышала массу 1000 семян в составе целых плодов, в среднем, на 13,9%. Так, масса 1000 семян фенхеля составляла 5,42 г, масса 1000 односемянков – 5,72 г, семян в составе целых плодов – 5,02 г.

Семена культуры начинали прорастать на 2-3-й день, наиболее динамично этот процесс проходил на 5-10-й день. Энергия прорастания семян составила 39,8, лабораторная всхожесть – 83,1%.

Структурные элементы (одно- и двусемянки) характеризовались разными посевными качествами. Энергия прорастания односемянков составила 53,2%, плодов-двусемянков – 22,1%, лабораторная всхожесть – 84,3 и 81,6%, соответственно. Следовательно, посевные качества изменялись пропорционально массе 1000 семян фенхеля. Более крупные семена име-