23. *Steiner I., Kennedy G. E., Pachner A.* The neurotropic herpes viruses : herpes simplex and varicella-zoster // Lancet Neurology. – 2007. – 6. – P. 1015-1028.
24. *Wald A., Krantz E., Selke S. et al.* Knowledge of partners’ genital herpes protects against herpes simplex virus type 2 acquisition // J Infect Dis. – 2006. – 194. – P. 42-52.
25. *Whitley R. Roizman B.,* Herpes simplex virus infections // The Lancet. – 2001. – 357. – P. 1513-1518.

РЕЗЮМЕ

КЛІНІКО-ІМУНОЛОГІЧНІ ЕФЕКТИ ПРИ ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ РЕЦИДИВУЮЧУ ГЕРПЕСВІРУСНУ ІНФЕКЦІЮ

Руденко М.Ю., Курченко А.І., Дріянська В.В.

Кафедра імунології і алергології з курсом медичної генетики НМУ ім. О.О.Богомольца (Київ, Україна)[1]; клініка ЄвроДон (Ростов-на-Дону, РФ)[2]; ДНУ «НПЦПКМ» ГУД, Київ, Україна[3]

Показані позитивні клінічні, серологічні і імунологічні ефекти рекомбінантного α-2-інтерферону у хворих на хронічну рецидивуючу герпесвірусну інфекцію. Лікування з використанням цього препарату разом зі стандартними методами антивірусної терапії (валацикловір) призводило до зниження рівнів в крові IgG, IgM та CD3+CD95+-клітин, підвищення – IgA, CD3+CD25+- (%) і CD3+HLA-DR+-клітин (% та абсолютна кількість), що свідчило про оптимізацію показників імунної системи. Отримані дані дозволяють вважати доцільним використання інтерферонотерапії у хворих на хронічну рецидивуючу герпесвірусну інфекцію.

Ключові слова: хронічна рецидивуюча герпесвірусна інфекція, α-2-інтерферон, імунологічні ефекти.

SUMMARY

CLINICO-IMMUNOLOGICAL EFFECTS AT TREATMENT OF PATIENTS WITH CHRONIC HERPES VIRUS INFECTIONS

Rudenko M.Yu., Kurchenko A.I., Driyanska V.V.

The positive clinical, serological and immunological effects of α-2 IFN in patients on chronic herpes virus infections are shown. Treatment by means of this medicament along with standard methods of antivirus therapy (valacyclovir) in patients resulted in the decrease of IgG, IgM and CD3+CD95+-cells, increase of IgA, CD3+CD25+- (%) and CD3+HLA-DR+-cells (%, abs), that indicates the optimization of the immune system data. The data received allow to regard IFN- therapy advisable for patients with chronic herpes virus infections.

Key words: chronic herpes virus infection, α-2 IFN, immunological effects.

УДК

ЕКСПРЕСІЯ АЛЕРГЕНУ BET V 1 ПИЛКУ УКРАЇНСЬКОЇ *BETULA VERRUCOSA* EHRH

ШЕВЦОВА Т.В.[1], ГАРКАВА К.Г.[1], БРИНДЗА Я.[2], ЖАРОВСЬКА Я.[3], ЛАБАЙОВА М.[3]

[1]Національний авіаційний університет, Інститут екологічної безпеки, кафедра біотехнології, Київ, Україна; [2]Інститут охорони біорізноманіття та біологічної безпеки, Словацький аграрний університет, Нітра, Словаччина; [3]Кафедра генетики та селекції рослин, Словацький аграрний університет, Нітра, Словаччина

Актуальним питанням сучасного суспільства є поширеність алергічних захворювань. Ними страждають як доросле населення, так і діти, як в промислово розвинених країнах, так і в тих, що розвиваються [1]. Достовірної статистики алергічних захворювань в Україні немає, але за даними президента Асоціації алергологів України Пухлика Б.М. та його колег, є близько 10 млн хворих на алергічні захворювання (залежно від регіону, від 20 до 30% населення) і щорічно з’являється 500 тис. нових хворих [2,3]. Крім того, епідеміологічні дослідження за програмою ISAAC, проведені у багатьох регіонах світу показали, що перше місце за поширеністю симптомів алергії поділяють Україна і Велика Британія [3]. Тому обговорення та вивчення питань стосовно алергії та джерел алергенів посідають першочергове місце.

Пилкові алергени є одним з основних джерел захворювань органів дихання [4,5]. У країнах Європи поширеність полінозів перевищує 40%. Це захворювання, яке не знає кордонів [5]. Тим більше пилок – не лише джерело алергії, але й «транспорт» для радіонуклідів, агресивних хімічних речовин тощо [2,6]. Алергія на пилок часто розглядається як модель для вивчен-

ня взаємозв'язку між забрудненістю повітря та респіраторною алергією [1].

Найсильніші і найчастіші джерела алергенів – пилок рослин, що належать до порядків *Fagales, Oleaceae* та *Cupressaceae*. Береза є найбільш потужним і частим джерелом алергенів порядку *Fagales*, основним джерелом весняного полінозу в Європі [7,8]. Вона належить до вітрозапильних рослин, її легкий і летючий пилок виділяється у великих кількостях і переноситься на далекі відстані [9]. Аеропалінологічні дослідження в різних регіонах світу зафіксували, що високоалергенний пилок берези присутній в значних кількостях у складі пилкового дощу в країнах Північної Європи і Скандинавії, а також Франції, Бургундії, Швейцарії, України, Росії, Польщі, Хорватії, Іспанії, Португалії, Італії, Туреччині, в Північній Америці (Вашингтон (округ Колумбія), Нью-Йорк, Філадельфія (Пенсільванія), Черрі Хілл (Нью-Джерсі)) [4]. В Україні хворих на поліноз є приблизно 7% (3,36 млн осіб) [3]. Аеропалінологічні спостереження Савицького та співавт. у м. Києві протягом січня-жовтня 1994 року в найбільшій кількості зареєстрували види пилку, що належать до родин: *Betulaceae* (21%), *Chenopodiaceae/ Amaranthaceae* (10%), *Ambrosia* (10%), *Artemisia* (9%) *Pinaceae* (8%) and *Poaceae* (6%) [10]. За даними Вітик Л.Д., гіперчутливість до пилку берези в м. Києві складає 52,7%, що ненабагато поступається лише пилку ліщини (57,1%) [11]. Родінкова В.В. також відмічала домінування пилку берези бородавчастої у м. Києві та м. Вінниці у дослідженнях 1999 та 2000 рр. [12].

Оскільки пилок берези є сильним алергеном, він інтенсивно досліджується: наявність в атмосфері, кількість і якість, поширення і транспортування на далекі відстані [13-16], типи алергену пилку берези, ізоформи типів алергену пилку берези [17-19], дослідження хворих [20].

Основний алерген пилку берези – білок Bet v 1. Він належить до родини патогенез-пов'язаних рослинних білків (PR-10), які виробляються у відповідь на захист від різних патогенів або інші стресові умови і був визначений в більш ніж 70 видів квіткових рослин [7,17,21]. До цих пір, біологічна функція Bet v 1 не повністю з'ясована, хоча деякі припущення були зроблені на основі експериментів *in vitro* і структурних досліджень. Докази того, що члени родини Bet v 1 можуть захистити рослини від комах свідчать останні дослідження, які показали інсектицидну активність Bet v 1 – гомологічного білка з барвінку, PR10 [7]. Білок Bet v 1 з молекулярною масою 17,5 кДа є найбільш відомим представником родини PR-10. Він складається з різних природних ізоформ, закодованих сімома генами, спільно використовуючи більше ніж 95%-ву послідовність [22]. Серед багатьох ізоформ білка Bet v 1 36 з них були внесені до офіційного списку алергенів, що підтримується Комітетом з міжнародної номенклатури алергенів ВООЗ та Міжнародного союзу імунологічних товариств [8]. Ґрунтуючись на їх здатності зв'язувати імуноглобулін Е, ізоформи Bet v 1 поділяють на гіпер- та гіпоалергенні різновиди. Деякі з цих структурно, тісно пов'язаних білків є сильними алергенами, в той час як інші пов'язані меншою мірою або не пов'язані взагалі [18,19]. Пилок берези – головне джерело алергену Bet v 1, інші частини берези, в тому числі інші складові сережок, виражають низький рівень Bet v 1 [23,24].

Аналіз алергенів на молекулярному рівні став можливим завдяки дослідженню ДНК і ПЛР у реальному часі, яка є зручним інструментом для оцінки алергенів пилку. Longhi та ін. використовували ПЛР у реальному часі як швидкий, точний і автоматизований метод для виявлення і кількісної оцінки таксонів алергенного пилку в повітрі [25].

Мета дослідження полягає в тому, щоб визначити відносну кількість алергену берези бородавчастої Bet v 1 в зразках пилку з різних місць зростання на території України за допомогою ПЛР у реальному часі.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Пилок берези бородавчастої було відібрано в межах районів, перелічених у таблиці 1.

Таблиця 1

Місця заготовки пилку берези бородавчастої

Зразок	Місце зростання дерев
1	м. Київ (паркова зона, біля житлових будинків)
2a	м. Переяслав-Хмельницький Київської обл. (біля житлових будинків та автомобільних доріг)
2b	м. Переяслав-Хмельницький Київської обл. (на території природного музею)
3	с. Хоцьки Київської обл. (на окремих полянах серед лісу)
4	смт. Іванків Київської обл. (біля житлових будинків та автомобільних доріг), III чорнобильська зона
5	м. Кузнецовськ Рівненської обл. (біля лісу та автомобільних доріг), IV чорнобильська зона
6	смт. Бородянка Київської обл. (біля аеродрому), IV чорнобильська зона

Рівень експресії гена Bet v 1 було проаналізовано за допомогою кількісної ПЛР у реальному часі.

Процес підготовки РНК. Загальна РНК із зразків пилку берези була екстрагована за допомогою набору GeneJET™ Plant RNA Purification Mini Kit (Fermentas) відповідно до рекомендацій заводу-виробника. Якість РНК та концентрація були визначені спектрофотометрично. Зворотну транскрипцію виконували з використанням Maxima® First Strand cDNA Synthesis Kit для кількісної ПЛР зі зворотною транскрипцією (Fermentas), використовуючи 1000 нг загальної РНК виділеної з пилку, відповідно до рекомендацій заводу-виробника та з температурою і часом, зазначеними у протоколі.

Процедура ПЛР у реальному часі та обробка даних. Праймери для ПЛР у реальному часі були підібрані на основі послідовностей мРНК гена Bet v 1 і еталонного гена циклофіліну. Вони обидва перераховані в базах даних NCBI під інвентарним номером, які зазначено в таблиці 2. Праймери були розроблені з використанням інструменту для пошуку специфічних праймерів Primer-Blast (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/). Послідовності праймерів, які використовували в аналізі ПЛР у реальному часі, також перераховано в таблиці 2.

Таблиця 2

Послідовності використаних праймерів та коди їх приєднання

Назва праймера	Послідовності праймерів	Температура відпалу праймера
Cycloph-Bet-R	TGCCGGGGCCGGTGTGCTTC	AJ 311666.1
Cycloph-Bet-F	GCCGCTCCGGCAAGCCCCTC	
BetV1-R	CTCCATCAGGGGTTGCCACT	X15877.1
BetV1-F	ATGGAGGGCCTGGAACCATT	

Для оптимізації умов ПЛР для кожного праймера були розглянуті температура відпалу та стандартна крива ефективності ПЛР. Специфічність ПЛР ампліфікації була перевірена за допомогою аналізу кривої плавлення.

Всі реакції проводили в установці Biorad CFX96. Для отримання необхідної кількості продукту були оптимізовані концентрації праймерів. Потім було розраховано ефективність ампліфікації для кожної оптимізованої пари праймерів з використанням 2-кратних серій розведення. Реакційна суміш об’ємом 25 мкл містила Maxima® SYBR Green/ROX qPCR Master mix (2X) (Fermentas), 0,2 μM кожного праймера і 400 нг транскрибованої кДНК. Аналіз ПЛР у реальному часі проводили в об’ємі 15 мкл. Використовували наступні температурні та часові умови: початковий крок денатурації при 95 °C протягом 10 хв, 40 циклів при 95°C протягом 15 с, при 60 °C протягом 30 с і при 72 °C протягом 40 с. Флуоресценція спостерігалася при 60 °C протягом кожного циклу. В результаті криві плавлення були визначені для кожної реакції, щоб гарантувати, що були вироблені окремі продукти. Підсумкову реакцію проводили на 1,8% агарозному гелі, щоб підтвердити, що продукт унікальний і правильного розміру. Було проведено три повторності кількісної ПЛР у реальному часі. Потім було проведено кількісне визначення алергену Bet v 1 відповідно до методу Pfaffl [26]. Алерген в результаті аналізу було унормовано по відношенню до гену циклофіліну і порівняно з експресією одного і того ж гену алергена пилку зразку 3 (с. Хоцьки), який було обрано в якості калібратора.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

У цьому дослідженні ми поставили за мету визначити відносну кількість алергену берези бородавчастої Bet v 1 в зразках пилку та розробити метод ПЛР у реальному часі, здатного ідентифікувати і кількісно визначати підгрупу алергену пилку берези Bet v 1 з використанням барвника SYBR GREEN. Аналогічні підходи на основі ПЛР у реальному часі вже застосовуються в різних галузях щодо алергенів для виявлення і кількісного визначення з трансгенних конструкцій, що містяться в продуктах харчування [27,28].

Ідеальний ген контролю повинен бути виражений в незмінній формі, незалежно від умов експерименту, включаючи різні типи тканин або клітин, стадію розвитку або обробку зразка. Але немає одного гена, який відповідає цьому критерію для кожних експериментальних умов. Необхідно перевірити експресію стійкості контрольного гену для конкретних вимог експерименту до його використання як зразка [29].

В якості контролю для нормалізації було обрано циклофілін. Кодуючі ділянки гену були ізольовані за допомогою ПЛР з використанням описаних праймерів, а потім визначено кількісно порівнянням з відомими стандартами на гелях агарози. Десять пмоль кожної кодуючої ділянки гену було використано як контроль проти загальної клітинної РНК для оцінки відносних рівнів РНК для кожного гена у відповідності до вказаних наростаючих умов. Циклофілін забезпечив гарний визначаючий контроль і, як виявилося, є зручним для показу визначального рівня

експресії, тому він був використаний в якості стандарту в наступних експериментах. Окремі криві продуктів кількісної ПЛР в реальному часі, розраховані шляхом побудови негативної похідної флуоресценції [-R (T)], що випускаються зразком у ході ПЛР при процедурі плавлення (від 65 °С до 95 °С), показали єдиний пік плавлення при температурі Tm 80 °С для досліджуваних зразків і при Tm 84,5 °С для_специфічного продукту ПЛР циклофіліну (рис. 1). Більше того, електрофорез цих продуктів в агарозному гелі підтвердив ампліфікацію одного продукту і в ході ПЛР не були утворені праймер-димери. При проведенні тесту NTC (No Template Control) не утворилося ніяких продуктів і криві дисоціації для них не спостерігалися.

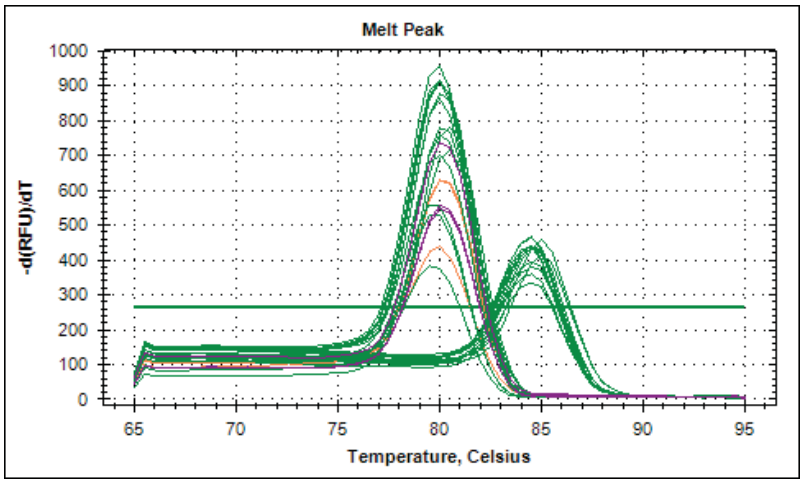

Рис. 1. Температури плавлення досліджуваних продуктів Bet v 1 і продукту ПЛР циклофіліну у вигляді кривих дисоціацій

Стандартна крива була побудована на основі аналізу 5 послідовних розведень кДНК пилку в 2-кратному розведенні, досягаючи ефективності 92,8%. Стандартна крива показала лінійну регресію між вхідними значеннями кДНК і порогового циклу Ct (threshold cycle) в 2 незалежних аналізах з коефіцієнтом детермінації (R2) 0,98. Стандартна крива, побудована на основі даних про зразки пилку з різних місць зростання, показала також добру відтворюваність, тому що лінійний регресійний аналіз продемонстрував накладання значень на похилій прямій (рис. 2).

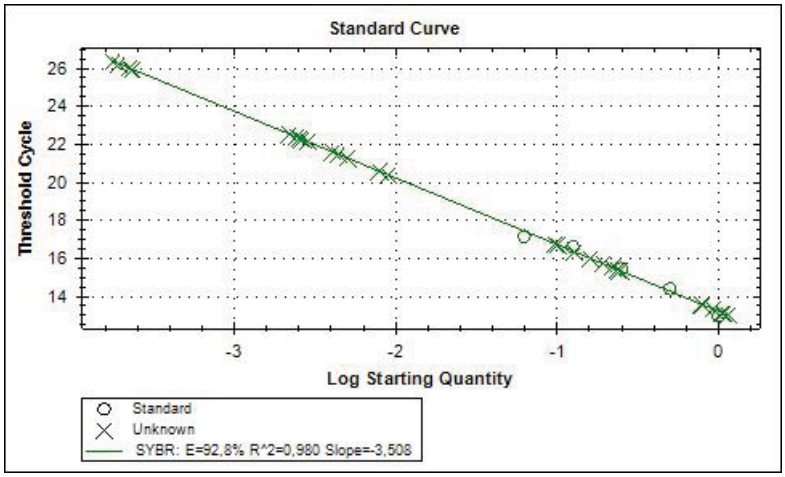

Рис. 2. Стандартна крива аналізованих значень, побудована для гену циклофіліну

ПЛР з детекцією «по кінцевій точці» показала, що алерген Bet v 1 був розшифрований у всіх зразках пилку берези (дані не показані). Зразок пилку, заготовлений на території лісу (№3) було обрано в якості калібратора для вираження аналізів. Кількісна ПЛР у реальному часі підтвердила результати ПЛР з детекцією «по кінцевій точці», і забезпечила більш надійну кількісну оцінку рівнів експресії гена Bet v 1. Кількісна ПЛР у реальному часі показала відхилення у відносному вмісті транскриптів алергена серед зразків з різних місць зростання (рис. 3).

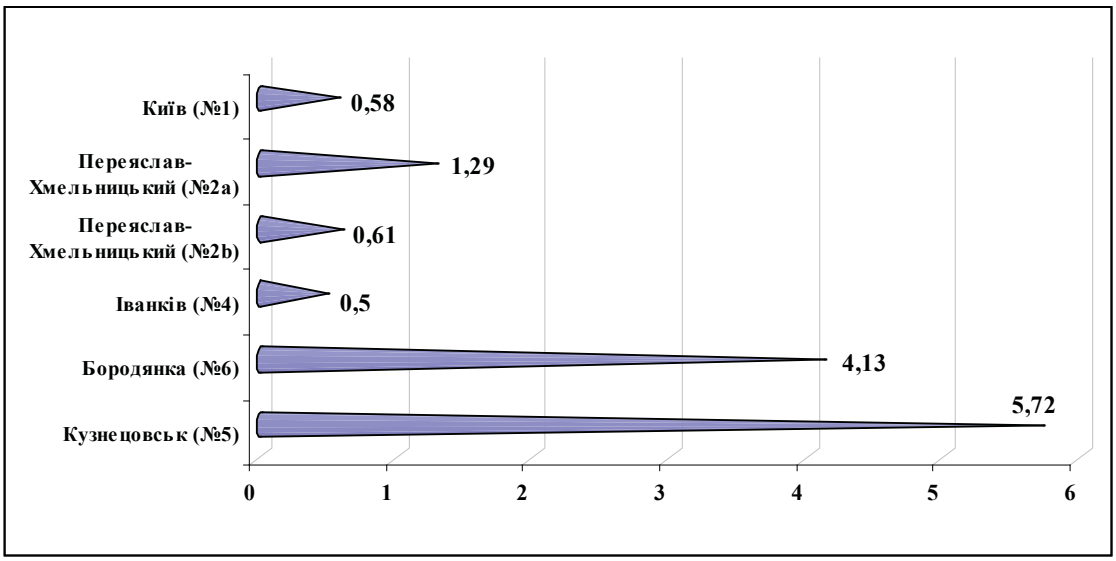

Рис. 3. Візуалізація співвідношень експресії досліджуваних зразків пилку берези бородавчастої

Відмінності між рівнями експресії добре зареєстровані для багатьох алергенів на різних етапах росту [30,31], також існують дослідження щодо різних рівнів експресії алергену для змінних кліматичних умов [32]. У цьому дослідженні рівень експресії алергену Bet v 1 був підтверджений для шести різних зразків пилку, які були заготовлені в урбанізованій території навколо м. Києва.

Для виправлення існуючої зміни від зразка до зразка була використана нормалізація проти контрольного гена, оскільки вони обоє – контрольний ген і калібратор, слугували в якості позитивного контролю. Як показано на рисунку 3, експресія алергену Bet v 1 значно нижча серед беріз, які ростуть на урбанізованій території (зразки №1, №2a, №2b, №4), ніж в маргінальних районах, коли ні житлових, ні інших типів будинків немає по сусідству (зразки №5, №6). У зразках з урбанізованих місць зростань при порівнянні зі зразком із лісу, який слугував калібратором, експресія алергену Bet v 1 в середньому вище в 1,5 рази (варіювалася від 0,77 до 2-х і вище). У зразках, заготовлених на кордоні урбанізованих територій експресія алергену Bet v 1 становить лише в 0,55 разів вище при порівнянні зі зразком з лісу. У своєму дослідженні Bryce та співавт. (2010) показали, що пилок берези з міських районів має більш високий алергенний потенціал, ніж пилок з сільської місцевості, хоча вміст алергену залишається незмінним [14].

ПЛР у реальному часі на основі вимірювання рівня експресії алергену берези Bet v 1, що ми розробили, знаходиться у згоді з опублікованими даними, які пропонують метод кількісної ПЛР у реальному часі як надійний і відносно простий спосіб виведення відносного вмісту алергену [30,33].

ВИСНОВКИ

У зв’язку зі зростанням числа алергічних реакцій дуже важливо мати швидкі та надійні методи виявлення алергену. До цих пір не було жодного дослідження для порівняння рівня експресії алергену Bet v 1 серед українських беріз. Розроблений в даному дослідженні ПЛР-аналіз, спрямований на алерген пилку берези Bet v 1, є чутливим для визначення зміни рівня експресії алергену і може використовуватись в лабораторних дослідженнях як швидкий і відтворюваний метод виявлення алергену. Було виявлено, що рівень експресії алергену Bet v 1 для шести зразків пилку берези бородавчастої залежить від умов місця зростання. Питання про точні кореляції між рівнем експресії і алергенним потенціалом повинно бути вивчено в подальших дослідженнях.

ПОДЯКА

Це дослідження виконувалось в рамках проекту KEGA 001SPU/4-2012. Обладнання було отримано завдяки проектам ECOVA і ECOVA +.

Співавтор Шевцова Т.В. висловлює подяку Міжнародному Вишеградському фонду за надану стипендію на наукове стажування, в ході якої були отримані результати і знання, представлені в цій роботі.

ЛІТЕРАТУРА

1. Белая книга по аллергии Всемирной организации по аллергии (World Allergy Organization) 2011-2012 // Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология. – 2012. – № 3. – С. 33-41.

2. *Пухлик Б.М.* Українська алергологія: здобутки та проблеми / Б.М. Пухлик // Здоров’я України. – 2006. – № 11-12.
3. Питання поширеності та економічної ефективності лікування алергійних захворювань органів дихання в Україні / Б.М. Пухлик, Є.М. Дитятківська, І.В. Гогунська [та ін.] // Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология. – 2012. – № 2. – С. 5-7.
4. *Шамгунова Б.А.* Аэропалинологические аспекты поллинозов / Б.А. Шамгунова, Л.В. Заклякова // Астраханский медицинский журнал. – 2010. – Т. 5, № 1. – С. 27-35.
5. *Шамгунова Б.А.* Эпидемиология поллинозов: факты, основные тенденции / Б.А. Шамгунова, Л.В. Заклякова // Астраханский медицинский журнал. – 2010.– Т. 5, № 2. – С. 10-18.
6. *Маркатун М.М.* Аллергия на пыльцу, пыльцевая аллергия, поллиноз [Електронний ресурс] / М.М. Маркатун // Аллерголог.РУ – Аллергия и Астма.
7. *Mothes N.* Biology of tree pollen allergens / N. Mothes, R. Valenta // Current Allergy and Asthma Reports. – 2004. – № 4. – P. 384-390.
8. Proteomic profiling of birch (Betula verrucosa) pollen extracts from different origins / A. Erler, T. Hawranek, L. Krückemeier [et al.] // Proteomics. – 2011. – Vol. 11. –P. 1486-1498.
9. Allergic symptoms caused by long-distance transported birch pollen / J.E. Wallin, U. Segerström, L. Rosenhall [et al.] // Grana. – 1991. – Vol. 30. – P. 265-268.
10. Airborne pollen in Kiev (Ukraine): gravimetric samplin / V.D. Savitsky, L.G. Bezus’ko, N.G. [et al.] // Aerobiologia. – 1996. – Vol. 12, № 1. – P. 209–211.
11. *Вітик Л.Д.* Підвищення ефективності специфічної алерговакцинації у хворих на поліноз шляхом корекції імунологічної реактивності : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.08 «Імунологія та алергологія» / Л.Д. Вітик. – Київ, 2008. – 20 с.
12. *Родінкова В.В.* Повітряний моніторинг пилку алергенних рослин урбанізованої екосистеми на прикладі м. Вінниці: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.16 «Екологія» / В.В. Родінкова. – Чернівці, 2005. – 25 с.
13. Sources, impact and exchange of early-spring birch pollen in the Moscow region and Finland / P. Siljamo, M. Sofiev, E. Severova [et al.] // Aerobiologia. – 2008. – Vol. 24, № 4. – P. 211-230.
14. Impact of urbanization on the proteome of birch pollen and its chemotactic activity on human granulocytes / M. Bryce, O. Drews, M.F. Schenk [et al.] // Int. Arch. Allergy Immunol. – 2010. – Vol. 151, № 1. – P. 46-55.
15. Modelling analysis of source regions of long-range transported birch pollen that influences allergenic seasons in Lithuania / L. Veriankait, P. Siljamo, M. Sofiev [et al.] // Aerobiologia. – 2010. – Vol. 26, № 1. – P. 47-62.
16. Release of Bet v 1 from birch pollen from 5 European countries. Results from the HIALINE study / J.T.M. Buters, M. Thibaudon, M. Smith [et al.] // Atmospheric Environment. – 2012. – Vol. 55. – P. 496-505.
17. Crystal structure of a hypoallergenic isoform of the major birch pollen allergen Bet v 1 and its likely biological function as a plant steroid carrier / Z. Markovic´-Housley, M. Degano, D. Lamba [et al.] // J. Mol. Biol. – 2003. – Vol. 325, № 1. – P. 123-133.
18. Dissection of immunoglobulin E and T lymphocyte reactivity of isoforms of the major birch pollen allergen Bet v 1: potential use of hypoallergenic isoforms for immunotherapy / F. Ferreira, K. Hirtenlehner, A. Jilek [et al.] // J. Exp. Med. – 1996. – Vol. 183, № 2. – P. 599-609.
19. Crystallographically mapped ligand binding differs in high and low IgE binding isoforms of birch pollen allergen Bet v 1 / S. Kofler, C. Asam, U. Eckhard [et al.] // J. Mol. Biol. – 2012. – Vol. 422, № 1. – P. 109-123.
20. *Sekerková A.* Detection of Bet v 1, Bet v 2 and Bet v 4 specific IgE antibodies in the sera of children and adult patients allergic to birch pollen: evaluation of different IgE reactivity profiles depending on age and local sensitization / A. Sekerková , M. Poláčková // Int. Arch. Allergy Immunol. – 2011. – Vol. 154, № 4. – P. 278-285.
21. The potential of Bet v 1 homologues, a nuclear multigene family, as phylogenetic markers in flowering plants / J. Wen, M. Vanek-Krebitz, K. Hoffmann-Sommergruber [et al.] // Mol. Phylogenet. Evol. – 1997. – Vol. 8, № 3. – P. 317-333.
22. Seven different genes encode a diverse mixture of isoforms of Bet v 1, the major birch pollen allergen / M.F. Schenk, L.J. Gilissen, G.D. Esselink [et al.] // BMC Genomics. – 2006.– Vol. 7. – P. 168-172.
23. Expression of Bet v 1, the major birch pollen allergen, during anther development / I. Swoboda, T.C.H. Dang, E. Heberle-Bors [et al.] // Protoplasma. – 1995. – Vol. 187, № 1-4. – P. 103-110.

24. Orbicules do not significantly contribute to the allergenic micro-aerosol emitted from birch trees / S. Vinckier, P. Cadot, M. Grote [et al.] // Allergy. – 2006. – Vol. 61, № 10. – P. 1243-1244.

25. Biomolecular identification of allergenic pollen: a new perspective for aerobiological monitoring / S. Longhi, A. Cristofori, P. Gatto [et al.] // Annals of allergy, Asthma & Immunology. – 2009. – Vol. 103, № 6. – P. 508-514.

26. *Pfaffl M.W.* Validities of mRNA quantification using recombinant RNA and recombinant DNA external calibration curves in real-time RT-PCR / M.W. Pfaffl, M. Hageleit // Biotechn. Lett. – 2001. – Vol. 23. – P. 275-282.

27. Development of a real-time PCR method for the differential detection and quantification of four solanaceae in GMO analysis: potato (Solanum tuberosum), tomato (Solanum lycopersicum), eggplant (Solanum melongena), and pepper (Capsicum annuum) / M. Chaouachi, R. El Malki, A. Berard [et al.] // J. Agric. Food Chem. – 2008. – Vol. 56. – P. 1818-1828.

28. Detection of hazelnut (Corylus spp.) in processed foods using real-time PCR / M. Arlorio, E. Cereti, J.D. Coisson [et al.] // Food Control. – 2007. – Vol. 18. – P. 140-148.

29. Schmittgen T.D. Effect of experimental treatment on housekeeping gene expression: validation by real-time, quantitative RT-PCR / T.D. Schmittgen, B.A. Zakrajsek // J. Biochem. Biophys. Methods. – 2000. – Vol. 46. – P. 69-81.

30. Temporal and spatial expression of the major allergens in developing and germinating peanut seed / I.H. Kang, P. Srivastava, P. Ozias-Akins [et al.] // Plant Physiology. – 2007. – Vol. 144.– P. 836-845.

31. Detection of allergenic ingredients using real-time PCR: a case study on hazelnut (Corylus avellena) and soy (Glycine max) / C. Platteau, M. De Loose, B. De Meulenaer [et al.] // J. Agric. Food Chem. – 2011. – Vol. 59, № 20.– P. 10803-10814.

32. Variable expression of pathogenesis-related protein allergen in mountain cedar (Juniperus ashei) pollen / T. Midoro-Horiuti, R.M. Goldblum, A. Kurosky [et al.] // J. Immunol. – 2000. – Vol. 164. – P. 2188-2192.

33. *Škultéty*, O. EVA Green real-time PCR used to detect cellery as an allergen in food / O. Škult ty, A. Jurčáková // Potravin*á*rstvo. – 2011. – Vol. 5, № 2. – P. 70-72.

РЕЗЮМЕ

ЭКСПРЕССИЯ АЛЛЕРГЕНА BET V 1 ПЫЛЬЦЫ УКРАИНСКОЙ *BETULA VERRUCOSA* EHRH

Шевцова Т.В.[1], Гаркавая Е.Г.[1], Бриндза Я.[2], Жаровская Я.[3], Лабаева М.[3]

[1]Национальный авиационный университет, Институт экологической безопасности, кафедра биотехнологии, Киев, Украина

[2]Институт охраны биоразнообразия и биологической безопасности,

Словацкий аграрный университет, Нитра, Словакия

[3]Кафедра генетики и селекции растений,

Словацкий аграрный университет, Нитра, Словакия

В данной статье определены уровни экспрессии аллергена Bet v 1 шести образцов пыльцы березы бородавчатой с разных мест произрастания на территории Украины. Также был разработан анализ ПЦР в реальном времени для быстрого и воспроизводительного определения аллергенов. Установлено, что уровень экспрессии Bet v 1 зависит от мест сбора пыльцы.

SUMMARY

EXPRESSION OF BET V 1 ALLERGEN OF UKRAINIAN SILVER BIRCH POLLEN

T.V. Shevtsova[1], K.G. Garkava[1], J. Brindza[2], J. iarovsk[3], M. Labajov[3]

[1]National Aviation University, Institute of Ecological Safety, Biotechnology Department, Kyiv, Ukraine

[2]Institute of Biodiversity Conservation and Biosafety, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovak Republic

Department of Genetics and Plant Breeding,

Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovak Republic

In this paper the levels of the allergen Bet v 1 expression of six silver birch pollen samples from different habitats in Ukraine were defined. Also real-time PCR assay for fast and reproducible allergen detection was developed. It was found that the expression level of Bet v 1 depends on pollen collection sites.