

Сплайс-формы глутатионпероксидазы (GPx) *Polypedilum vanderplanki*

Научный руководитель – Несмелов Александр Александрович

Шайхутдинов Нурислам Маратович

Студент (бакалавр)

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра физиологии человека и животных, Казань, Россия

E-mail: nurislam.schaihutdinov@yandex.ru

Разработка новых методов сохранения живых клеток, тканей и органов в течение длительного времени является необходимым для их клинического использования. Современные технологии криозаморозки, которые широко используются в настоящее время, имеют ряд недостатков и ограничений, в связи с чем возникла необходимость разработки более эффективных методов сохранения биоматериала на протяжении длительного времени. Одним из перспективных способов сохранения биоматериала может служить хранение его в обезвоженном состоянии при комнатной температуре, основанный на ангидробиозе характерный для ряда организмов, включая личинку комара *Polypedilum vanderplanki*. В геноме *P. vanderplanki* присутствует всего один ген GPx (глутатионпероксидаза) в отличие от большинства геномов других организмов. Во время обезвоживания личиночной стадии продуцируется большое количество активных форм кислорода, которые служат источником окислительного стресса [1]. Анализ EST баз данных показал, что во время ангидробиоза *P. vanderplanki* экспрессируется большое количество генов, связанных с окислительным стрессом и одним из наиболее экспрессируемых антиоксидантных ферментов является GPx. По данным RNA-seq, для данного фермента установлено наличие альтернативного сплайсинга с восемью альтернативными вариантами последнего экзона и возможным исключением одного из экзонов транскриптов. Большой интерес представляют данные о наличии четырёх сплайс-форм GPx, кодирующих белки с заменой одного из каталитических остатков активного центра фермента. Несмотря на вероятное отсутствие GPx активности у таких сплайс-форм GPx, их относительное содержание увеличивается в ходе цикла ангидробиоза более чем наполовину в общем пуле GPx транскриптов. Целью настоящей работы было клонирование восьми сплайс-форм GPx с последующей проверкой их последовательности секвенированием и анализом их потенциальной активности. Из высушенных личинок *P. vanderplanki* выделялась РНК, и после синтеза кДНК производилось выделение целевых транскриптов с помощью NestedPCR с использованием специфических пар праймеров для каждой сплайс-формы. Исследовались нуклеотидные последовательности полученных транскриптов путём получения рестрикционных карт и секвенирования по Сенгеру. Проводился анализ потенциальной ферментативной активности. В результате было подтверждено присутствие всех восьми сплайс-форм GPx, существующих по данным RNA-seq, в том числе - сплайс-форм, кодирующих белки с заменой каталитических аминокислотных остатков. Проведена оценка потенциальной ферментативной активности данных форм GPx.

Источники и литература

- 1) Шагимарданова Е.И. и др. Жизнь без воды: криптобиоз беспозвоночных как модель для разработки технологии консервации биоматериала нового поколения // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2012. Т.3. №7. С. 185-189.

Иллюстрации

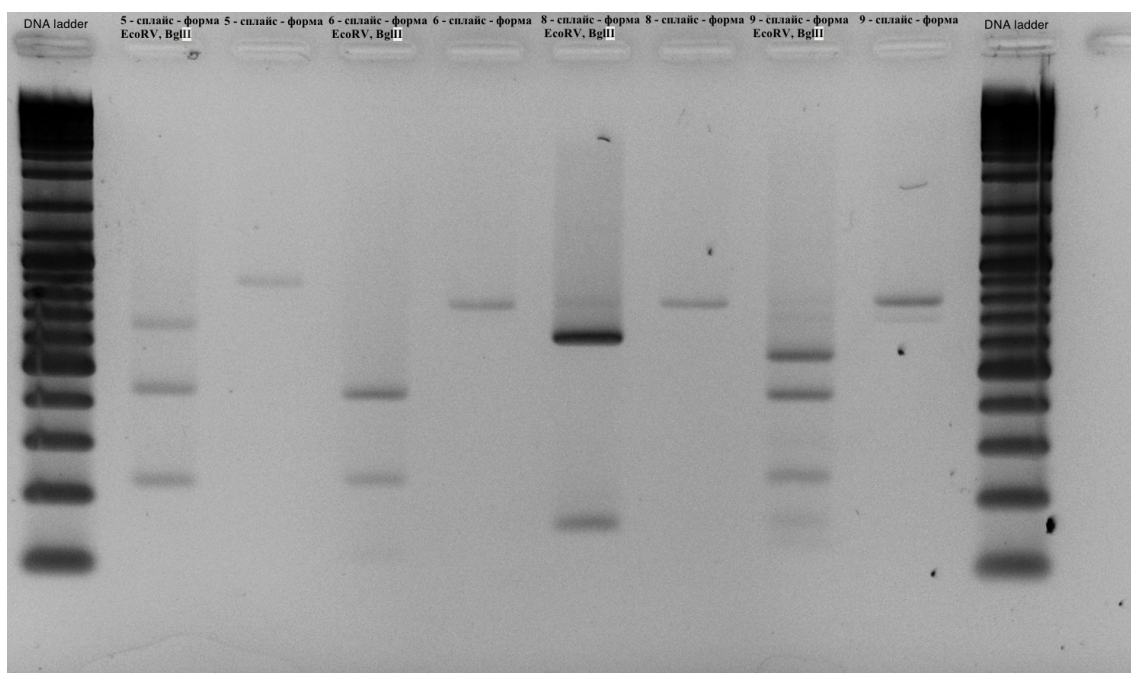


Рис. 1. Рестрикционный анализ продуктов амплификации четырех сплайс - форм GPx R. vanderplanki