

**Метод прижизненного измерения активности люциферазы в клетках  
млекопитающих в режиме реального времени**

**Научный руководитель – Дмитриев Сергей Евгеньевич**

***Акулич Ксения Александровна***

*Аспирант*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет  
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

*E-mail: ksandra\_girl@mail.ru*

Метод репортерных конструкций активно применяется в исследовательской практике для изучения экспрессии генов. Одним из наиболее часто используемых репортеров является люцифераза - фермент, который катализирует реакцию окисления люциферина, сопровождающуюся испусканием света (люминесценцией). Стандартная методика работы с люциферазой предполагает накопление репортерного белка в клетках, их последующий лизис и однократное измерение активности в лизате. Однако этот подход не позволяет проследить динамику накопления репортера с высоким разрешением и тем самым изучить тонкие детали экспрессии гена и ее регуляции.

В нашей лаборатории мы наладили метод прижизненного измерения люциферазы в режиме реального времени и применили его к изучению экспрессии различных репортерных конструкций на уровне трансляции в клетках млекопитающих. Мы сравнили кинетику и эффективность трансляции двух люцифераз - светлячка и *Renilla* - в зависимости от вида субстрата и его концентрации, а также протестировали несколько трансфицирующих реагентов. Используя оптимальные условия, мы показали, как меняется эффективность и кинетика трансляции трансфицированных мРНК под воздействием клеточных стрессов разного типа (окислительный стресс, облучение ультрафиолетом и др.) Новый метод позволил нам обнаружить феномен сплайсинга трансфицированных мРНК. Мы также проследили кинетику экспрессии гена люциферазы, вводимого на плазмиде методом ДНК-трансфекции, и проанализировали её различия по сравнению с трансфекцией мРНК.

Таким образом, нам удалось разработать высокочувствительный метод непрерывного измерения активности репортеров в живых культивируемых клетках млекопитающих и показать его применимость к изучению разных аспектов экспрессии репортерных генов.