

УДК 575.11:577.21

Н.Е.Гюлиханданова (асп., каф. БФ), Л.В.Пучкова, д.б.н. (ВНИИЭМ РАМН)

ИЗУЧЕНИЕ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ЦЕРУЛОПЛАЗМИНА В КЛЕТКАХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, КАК ФАКТОРА, ОБЕСПЕЧИВАЮЩЕГО ГОМЕОСТАЗ МЕДИ У НОВОРОЖДЕННЫХ

Центральную роль в метаболизме меди у млекопитающих выполняют различные тканеспецифические молекулярные формы церулоплазминов (ЦП). Установлено, что экспрессия гена ЦП зависит от содержания меди в окружающей среде, изменяется в онтогенезе, при беременности и воспалениях различной этиологии. В клетках молочной железы активность гена ЦП контролирует уровень содержания ЦП и, соответственно, меди в молоке. Изучение регуляции активности гена ЦП в клетках молочной железы, возможно, позволит понять механизм развития различных медьзависимых микроэлементозов. Рост числа заболеваний, идентифицируемых как медные микроэлементозы, делает эту проблему чрезвычайно актуальной.

На первом этапе для достижения этой цели была поставлена задача: изучить полиморфизм промоторной регуляторной части гена ЦП в популяции Санкт-Петербурга и установить его связь с уровнем экспрессии гена ЦП в клетках молочной железы. Для этого с помощью пакета компьютерных программ BLAST в базе данных HUMAN GENOME была выявлена последовательность, содержащая первый экзон и ~4000 п.н. промоторной области гена ЦП человека. С помощью программы Oligo (ver 3.4) подобраны 17 пар синтетических олигонуклеотидов (праймеров). Продукты, которые можно получить с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), применяя подобранные праймеры, колеблются в пределах 175...580 п.н. и последовательно покрывают этот участок генома. В качестве ДНК-матриц используется хромосомная ДНК, полученная из образцов крови матерей, в молоке которых в течение лактации будет измерено содержание ЦП энзиматическим и иммунологическим методами, а также концентрация меди методом атомно-абсорбционной спектроскопии. К настоящему времени исследовано 4 образца ДНК крови матерей, полученных из Отделения недоношенных детей НИИ акушерства и гинекологии им. Отто РАМН. Показано, что большинство экспериментально полученных продуктов ПЦР соответствуют по длине теоретически предсказанным и эффективно амплифицируются. В то же время некоторые промоторные области гена ЦП амплифицированные с ДНК-матрицы разных образцов крови имеют различия в нуклеотидной последовательности. Так, участок 1387...1570 эффективно амплифицируется с ДНКматрицы трех исследованных образцов крови, тогда как с ДНК-матрицы четвертого образца крови, продукт ПЦР, соответствующий этому участку, практически не выявляется. Эти данные, возможно, свидетельствуют о наличии замены нуклеотида (нуклеотидов) на участках посадки праймеров у данного пациента, что может приводить к неэффективной ПЦР.

При исследовании ПЦР продуктов, содержащих участок 945...1112, только в одном из четырех образцов крови обнаруживается неканонический продукт длиной ~1200 п.н., при этом полученный предполагаемый амплификат (ожидаемая длина 167 п.н.) содержится в следовых количествах продукта ПЦР. Отсутствие каких-либо ПЦР-продуктов в контрольной смеси, в которую при ПЦР не добавляли ДНК, практически исключает возможность занесения в смесь неспецифических ДНК. Однако некоторые промоторные области гена ЦП амплифицированные с ДНК-матрицы разных образцов крови имеют различия в нуклеотидной последовательности.