

ОЧИСТКА БЕЛКА GLNR ИЗ *LACTOBACILLUS PLANTARUM* 8PA3 И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ КОМПЛЕКСА CHIP-МЕТОДОМ

Неустроева О.А., Каюмов А.Р.

ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

neustroev.olga@mail.ru

Азот является одним из основных макроэлементов, необходимых для синтеза различных веществ, таких как аминокислоты, белки, витамины, нуклеиновые кислоты, поддерживающих жизнедеятельность клеток. Глутамин и ионы аммония - это предпочтительные источники азота, так как не требуют больших энергозатрат от клетки для усвоения. У бактерий рода *Lactobacilli* процессы, отвечающие за усвоение азота, практически не изучены. В геноме *Lactobacillus plantarum* 8PA3 мы идентифицировали ген *glnR*, кодирующий фактор транскрипции. Гомологи данного белка у многих бактерий являются регуляторами азотного обмена и становятся активными в условиях избытка азота. Ранее было выявлено, что у *Bacillus subtilis*, имеющих 84% гомологии данного белка с *L.plantarum* 8PA3, GlnR образует комплекс, состоящий из двух молекул белка и молекулы глутаминсинтетазы, и является фактором транскрипции оперона *glnA*. В отсутствие глутаминсинтетазы, комплекс также образуется, но в меньшем количестве.

Целью работы являлось получить очищенный рекомбинантный белок GlnR и идентифицировать промотеры-мишени данного белка в клетках *L.plantarum* 8PA3. Для этого были получены рекомбинантные штаммы *E.coli* BL21 pET15b-LpGlnR, способный к гиперпродукции рекомбинантного белка LpGlnR с N-концевой гексагистидиновой последовательностью и *E.coli* BL21 pASK-LpGlnR способный к гиперпродукции рекомбинантного белка LpGlnR со StrepII тагом. Белки очищены до электрофоретической гомогенности на Ni-NTA сефарозе (pET15b-LpGlnR) и на колонке Strep-tag (pASK-LpGlnR). Далее этот белок будет использован для определения образования белкового комплекса, в клетках *L.plantarum* 8PA3, путем метода иммунопреципитации с геномной ДНК *L.plantarum* 8PA3

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 15-04-02583а.

МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К СИНДРОМУ ЭПИЗОДИЧЕСКОГО ПАДЕНИЯ У КАВАЛЕР КИНГ ЧАРЛЬЗ СПАНИЕЛЕЙ

Носова А.Ю., Зайцева О.И., Сидоренко Е.В.

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

A.Nosova@igc.by

Популяции домашних животных включают несколько сотен различных пород, которые, как правило, происходят от небольшого числа основателей. Для каждой породы, представляющей изолированные и относительно однородные популяции, существует жесткий отбор на желаемые фенотипические и поведенческие характеристики, поэтому особи, обладающие ими, активно используются в разведении. Полученная в результате популяция может нести в себе множество спонтанно возникших негативных мутаций с возможностью многократного увеличения числа наследственных нарушений.

Синдром эпизодического падения (Episodic Falling Syndrome – EFS) относится к часто встречаемым генетическим нарушениям у кавалер кинг чарльз спаниелей. Это генетически обусловленный комплекс симптомов, сопровождающихся гипертонусом мышц в ответ на физическую нагрузку, эмоциональное возбуждение или стресс, в редких случаях проявляется без внешней причины. Данное аутосомно-рецессивное заболевание ассоциировано с геном *VCAN*, кодирующим белок, который участвует в образовании перехватов Ранвье, и нарушение его функций приводит к снижению проводимости миелинизированных аксонов. Проверка производителей на носительство мутации позволит снизить количество щенков, имеющих EPS. Информированность владельца собаки о её склонности к нервным припадкам способствует оказанию своевременной помощи и снизит число летальных исходов.

Нами изучено 75 чистопородных животных (из них 17 представители породы кавалер кинг чарльз спаниель). Идентификация аллельного состава гена *VCAN* проводилась с использованием ПЦР-анализа со специфичными молекулярными маркерами. Для выявления аллельного состава локуса *VCAN* проводятся две ПЦР реакции на каждый образец: с парами праймеров EFS1+EFS2 (для дикого аллеля гена) и EFS1+EFS3 (для мутантного аллеля гена).

Из 17 кавалер кинг чарльз спаниелей нами было выявлено 5 гетерозигот (носителей) и 1 гомозигота по мутантному аллелю (особь с EFS). У представителей других пород мутация нами не выявлена.

Таким образом, данная методика может быть использована для эффективной диагностики EFS в популяции кавалер кинг чарльз спаниелей с клиническими проявлениями недуга, так и для мониторинга групп риска, что позволит идентифицировать носителей и исключить из разведения. Кроме того, поскольку фенотип и здоровье животных зависит как от генетических факторов, так и от внешних условий, правильное содержание животного может купировать проявление наиболее тяжелых симптомов и продлить ему жизнь.