

ЗМІНИ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ В АВТОФАГІЧНИХ КАРДІОМІОЦИТАХ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ МЕТОДИКИ SINGLE-CELL RT-PCR В РЕАЛЬНОМУ ЧАСІ

©Д.О. Пашевін, В.Л. Гур'янова, Л.В. Тумановська, В.Є. Досенко, О.О. Мойбенко

Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України, Київ

Відомо, що за умов патологічних впливів у клітинах поряд з некротичною загибеллю можуть реалізуватися процеси апоптозу та автофагії. Як на клітинному, так і на тканинному рівнях перебіг патологічного процесу багато в чому буде залежати від того, який шлях загибелі буде переважати. Проте, на сучасному етапі, внутрішньоклітинні механізми реалізації клітинної загибелі вивчені недостатньо, а одночасна наявність різних видів загибелі в популяції клітин за однакових умов дозволяє зробити припущення про наявність генетичних чинників у реалізації цих процесів. Основною метою нашої роботи було дослідження відмінностей у експресії генів, що відіграють важливу роль у розвитку автофагії – генів mTOR (mammalian target of rapamycin) та убіквітину. Досліди проведені на первинній культурі кардіоміоцитів щура. Наявність автофагії визначалася шляхом суправітального забарвлення флуоресцентним барвником монодансилкадаверином (специфічно забарвлює автофагічні вакуолі). Окремі клітини з культури забирали

за допомогою скляної мікропіпетки (D=4-5 мкм). З застосуванням набору Taq Man Fast Cells-to-Ct проводили зворотну транскрипцію з використанням рендомного гексамерного праймеру. Отриману одноланцюгову ДНК використовували для полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі за допомогою SYBR Green технології. Рівень експресії генів убіквітину та mTOR стандартизували за експресією housekeeping гена (β -актин). В результаті досліджень було встановлено наявність відмінностей в експресії генів убіквітину та mTOR у контрольних клітинах та клітинах з ознаками автофагії. Зокрема, рівень експресії гена убіквітину в автофагічних клітинах був меншим у 5,66 рази ($P=0,04$) у порівнянні з контролем. Рівень експресії гена mTOR був вище в автофагічних клітинах (в 1,43 рази порівняно з контролем, $P>0,05$). Отримані дані дозволяють стверджувати, що розвиток автофагії залежить від вихідного рівня експресії генів, що обумовлює гетерогенність популяції культивованих кардіоміоцитів.