

Очистка рекомбинантных белков PET15B-LPGLNR и PASK51-LPGLNR

Неустроева О.А., Каюмов А.Р.

Казанский Федеральный Университет, Казань, Россия
e-mail: neustroeva.olga@mail.ru

Purification of recombinant protein PET15B-LPGLNR и PASK51-LPGLNR

Neustroeva O., Kayumov A.

Kazan Federal University, Kazan, Russia

Азот относится к основным макроэлементам и является строительным материалом для различных веществ, например, витаминов, аминокислот, белков, нуклеиновых кислот - все они жизненно необходимы для клеток. Среди множества различных источников азота, самыми предпочтительными для клеток являются глутамин и ионы аммония, так как они требуют самых наименьших энергозатрат для усвоения. Процессы, отвечающие за усвоение азота у бактерий рода *Lactobacili*, остаются плохо изучены по сей день. Однако, 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 pASK51-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(pASK51-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.

Роль астроцитов на посттравматическую регенерацию спинного мозга крысы в условиях введения рекомбинантных аденовирусных векторов Ad5-VEGF и Ad5-Ang в область повреждения

Повышева Т.В.¹, Шмаров М.М.², Исламов Р.Р.¹, Челышев Ю.А.¹

¹ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет», Россия

²ГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи, Россия

e-mail: t.povysheva@gmail.com

Astrocyte-mediated regeneration of injured rat spinal cord in rats after intraspinal injection of recombinant adenoviral vectors expressing VEGF and ANG

Povysheva T.V.¹, Shmarov M.M.², Islamov R.R.¹, Chelyshev Y.A.¹

¹Kazan State Medical University, Russia

²Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Russia

Возможность эффективного преодоления последствий травмы спинного мозга связывают с доставкой генов, кодирующих молекулы стимуляторов регенерации, как наиболее активно разрабатываемой терапевтической стратегии. На модели бокового амиотрофического склероза (ALS) у мышей и в ходе предварительных клинических испытаний у больных с ALS установлено замедление развития неврологического дефицита при сочетанном введении рекомбинантных аденовирусных векторов с генами нейротрофических и ангиогенных факторов, а именно сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и ангиогенина (ANG) (Ad5-VEGF+Ad5-ANG). В работе сделан акцент на исследовании реакций астроцитов, которые не только являются источником нейротрофических факторов, но и служат мишенями для сигналов из дегенерирующих нейронов, опосредуя нейропротекторное действие молекул стимуляторов регенерации, в частности ANG.

В ходе исследования зарегистрировано частичное восстановление двигательной функции, показатель BBB-теста на 30 сутки эксперимента на 35.9% выше в группе Ad5-VEGF+Ad5-ANG. Выявлено специфическое свечение GFP на расстоянии до 5 мм в роstralном и каудальном направлении от соответствующих точек инъекции. Это свечение зафиксировано на ранних сроках после травмы и введения вирусного вектора