

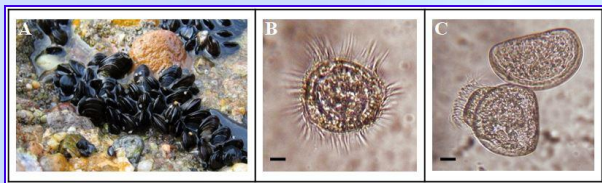
Оценка экспрессии генов интегрин-подобных белков как одного из маркеров контроля состояния клеток моллюсков после цикла замораживания-оттаивания

Агеенко Н.В.¹, Киселев К.В.², Одинцова Н.А.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук (ННЦМБ ДВО РАН),

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН

natkuprina@mail.ru



Фиг. 1. Различные стадии развития мидии *Mytilus trossulus* mussel: (A) *M. trossulus*; (B) бластула (12 ч.); (C) поздняя трохофора (32 ч.). Шкала, 10 μ m.

Фиг. 2. Уровень экспрессии генов β -интегрин-подобных белков β -A-i1, β -A-i2, β -B-i1 and β -B-i2 в неоплодотворенных яйцеклетках (Яйцекл.), сперматозоидах (Сп.), эмбрионах и личинках мидии *M. trossulus* на разных стадиях развития: бластула, 12 часов после оплодотворения (Бл.); трохофора, 32 ч. (Тр.); вельгер, 61 ч. (Вел.); также в гемоцитах (Гем.). Данные нормализованы относительно уровня экспрессии генов *gapdh* и *actin*.

Фиг. 3. Уровень экспрессии генов β -интегрин-подобных белков β -A-i1, β -A-i2, β -B-i1 and β -B-i2 в культуре эмбриональных клеток мидии *M. trossulus* до и после замораживания-оттаивания в присутствии проникающих и непроникающих криопротекторов: К – Контроль; А – Me_2SO ; В – $\text{Me}_2\text{SO} + \text{ЭГ} + \text{Тр} + \text{ПВП}$; С – ЭГ. Данные нормализованы относительно уровня экспрессии генов *gapdh* и *actin*.

Интегрин-подобные белки связаны с цитоскелетом у моллюсков и при нарушении адгезии их клеток происходят изменения в уровне экспрессии генов β -интегрин-подобных белков в количестве и распределении клеток, экспрессирующих эти белки.

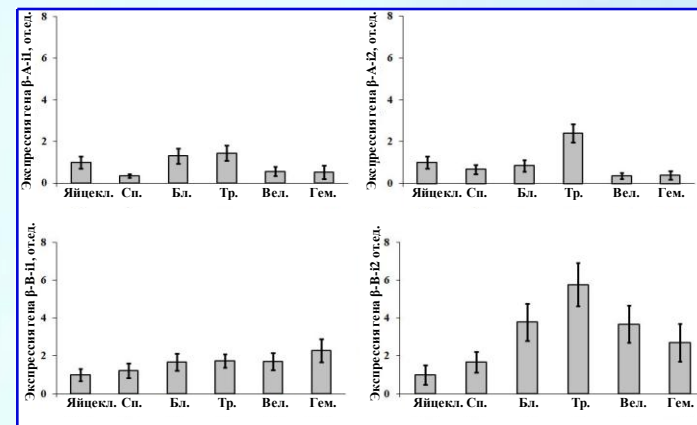
На основе результатов секвенирования разработаны специфические праймеры для оценки экспрессии генов интегрин-подобных белков мидии *M. trossulus* методом ПЦР в режиме реального времени.

Проведено исследование уровня экспрессии генов интегрин-подобных белков в культуре клеток до и после замораживания - оттаивания в присутствии проникающих и непроникающих криопротекторов.

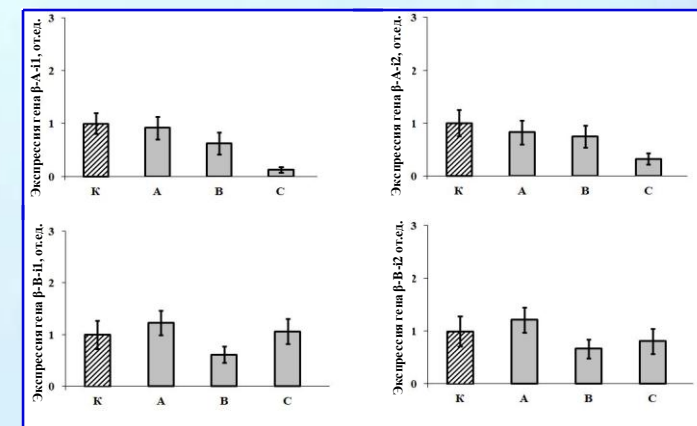
Замораживание в присутствии проникающего криопротектора - этиленгликоля (ЭГ), приводило к существенному снижению уровня экспрессии гена В-а и увеличению уровня экспрессии гена В-б.

Использование смеси из проникающих криопротекторов – диметилсульфоксида (Me_2SO) и ЭГ, и непроникающих криопротекторов - трегалозы (Тр) и поливинилпирролидона (ПВП), приводило к незначительному уменьшению уровня экспрессии тестируемых генов В-а и В-б.

Лучшим криопротектором является 5% Me_2SO , поскольку в этом случае уровень экспрессии обоих генов был близок к таковому в незамороженных интактных клетках. Полученные данные аналогичны результатам, полученным ранее другими методами - цитометрическими и цитологическими.



Фиг. 2.



Фиг. 3.