

к атрофии скелетных мышц. Однако животные, впадающие в зимнюю спячку, не страдают от деградации мышечной системы, что, возможно, связано с выработкой у них особых защитных механизмов в процессе эволюции. Для детального изучения молекулярных систем, лежащих в основе такой защитной адаптации, было проведено полногеномное исследование экспрессии мРНК на платформе Illumina HiSeq в камбаловидной мышце (m. Soleus) сони-полчка (*Glis glis*). Были использованы две группы животных: 1) виварийный контроль и 2) гипокинезия (содержание в специальных пеналах 14 суток). Транскриптом был собран *de novo* и далее был проведен анализ дифференциальной экспрессии транскриптов, используя CLC Genomics Workbench 7.5.1.

В транскриптом исследованных животных было определено 48 010 последовательностей. Из них 31 566 транскриптов показали значение экспрессии больше единицы. Во время гипокинезии в общей сложности 296 транскриптов поменяли свою экспрессию больше, чем в три раза, из которых 89 понизили экспрессию, а 207 повысили экспрессию.

У подопытных сонь были отмечены особенности экспрессии мышечных белков. Особый интерес представляет отсутствие изменений реакции белков титина и тропонина. При этом транскрипты, кодирующие небулин и миоглобин, незначительно понизили экспрессию (~ в 1,5–2 раза). В то же время транскрипты, кодирующие актин (*ACTA1*), при гипокинезии повысили экспрессию в 15 раз, а гены, кодирующие белки-миозины – в 3-9 раз.

На данном этапе анализа транскриптома можно сделать вывод, что у сонь-полчков в условиях гипокинезии, не развиваются атрофические процессы в камбаловидной мышце, или возникают на более длительных сроках. Морфологические данные подтверждают наше заключение. Значительное увеличение уровня экспрессии актина и миозина, возможно, является важным звеном в механизме предотвращения атрофии скелетных мышц у этих животных.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки К(П)ФУ в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров и при поддержке гранта ЯФ_а №14-04-92116.

ОЧИСТКА ПРОТЕИНАЗЫ HTRA ИЗ *BACILLUS SUBTILIS* 168 ИЗ КЛЕТОК РЕКОМБИНАНТНОГО ШТАММА *ESCHERICHIA COLI* BL21 PET-HTRA

Гайнутдинова З.Р., Чернова Л.С., Шарафутдинов И.С., Каюмов А.Р.

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

gzh1994@mail.ru

Протеиназа HtrA *B.subtilis* принадлежит к семейству сериновых протеаз HtrA – высокоспецифичных ферментов, протеолитическая активность которых модулируется температурой. Ее основной функцией является качественный белковый контроль, а так же удаление денатурированных и нефолдированных белков. От других протеаз белкового качественного контроля, протеиназы HtrA выгодно выделяются способностью к шапероновой активности. HtrA способны вызывать или модулировать различные сигнальные пути, расщепляя или изолируя регуляторные белки. Во многих клетках белки HtrA вовлечены в такие важные процессы, как пролиферация, миграция клеток и их гибель.

Для гиперпродукции рекомбинантного белка HtrA, несущего His6-tag на N-конце белка, ген *htrA* клонировали в экспрессионный вектор pET15b. Фрагмент ДНК, несущий ген *htrA*, получали с помощью ПЦР с геномной ДНК *B.subtilis* 168. Полученный продукт амплификации и вектор pET15b рестрицировали по сайтам BamHI и лигировали, после чего трансформировали лигазной смесью клетки *E.coli*. Рекомбинантные клетки высевали на селективной среде с ампициллином, а так же проверяли наличие вставки методом ПЦР. Таким образом, была получена плазмида pET15b-HtrA, обеспечивающая гиперпродукцию рекомбинантного белка HtrA-His6 в клетках *E.coli*.

Очистку рекомбинантного белка HtrA-His6 с His6-tag меткой проводили на Ni-NTA сефарозе. Клеточный экстракт культуры рекомбинантного штамма *E.coli* BL21 pET15b-HtrA наносили на колонку с Ni-NTA сефарозой размером 1x2см и элюировали буфером, содержащим имидазол в концентрации 250мМ. Фракции элюции с максимальным содержанием