

Цікаво відмітити, що у посліді свійських птахів і тварин зустрічались культури з досить високою стійкістю до значних концентрацій хроматів.

Список використаних джерел:

1. Costa M. Toxicology and carcinogenicity of Cr (6) in animal models and humans. Crit. Rev. Toxicol, 1997; 27(5): 431–442.
2. Kotas J., Stasicka Z. Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation. Environ. Pollut, 2000; 107(3): 263–283.
3. Toxicological review of hexavalent chromium. U.S. Environmental Protection Agency, Washington DC, 1998: 77.

Ткачук Д.М.

студент,

Навчально-науковий центр «Інститут біології»

Київського національного університету

імені Тараса Шевченка

Маланчук О.М.

кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник,

Інститут молекулярної біології та генетики

Національної академії наук України

АНАЛІЗ РІВНЯ СИНТЕЗУ БІЛКА RICTOR В РІЗНИХ ЛІНІЯХ КЛІТИН ССАВЦІВ

Більшість організмів мають добре розвинуті механізми для ефективного переходу між анаболічними та катаболічними станами. У ссавців прикладом такого механізму є сигнальна система, ключовим елементом якої є

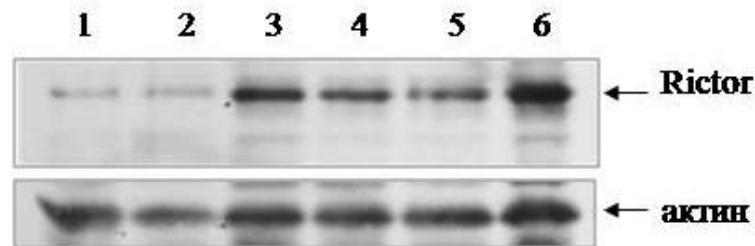
протеїнкіназа mTOR. Ця складна система контролює велику кількість клітинних процесів, що відповідають за утворення і використання енергії та поживних речовин. mTOR впливає на найбільш важливі функції клітини і відповідає за поведінку клітини в цілому, регулюючи процеси росту, виживання та проліферації. Порушення нормальної роботи цієї системи пов'язано з багатьма захворюваннями у людини, такими як рак, ожиріння, діабет другого типу, нейродегенерації та інші [1]. У зв'язку з цим зараз достатньо великий сектор фармакології розробляє нові методи лікування, які базуються на регуляції mTOR. При цьому враховується те, що вплив на загальний рівень функціональної активності цієї кінази є небажаним через велику кількість побічних ефектів, пов'язаних з її дерегуляцією. Тому основним критерієм для майбутніх лікарських препаратів є їх специфічний вплив, переважно інгібуючого характеру, лише на окремі процеси в клітині, що знаходяться під контролем mTOR. Крім того, сучасні дослідження вказують на тісний зв'язок між активністю mTOR та тривалістю життя [2].

mTOR являє собою еволюційно консервативну серин/треонін кіназу, яка формує два мультибілкові комплекси mTORC1 і mTORC2. Ці комплекси містять в своєму складі різні білки і виконують дещо різні функції в клітині. mTORC1 грає важливу роль в процесах синтезу білків та ліпідів, лізосомного біогенезу, аутофагії та відповідає за регуляцію енергетичного метаболізму. В свою чергу, mTORC2 також залучений у процеси синтезу білків та регуляції метаболізму, але крім цього ще здійснює контроль над реорганізацією актинового цитоскелета, регулює Na^+ -транспорт і забезпечує виживання клітини.

На даний момент інформації щодо mTORC1 значно більше порівняно з mTORC2, ключовим компонентом якого є білок rictor [3]. Останній, в свою чергу відповідає за субстратну специфічність, локалізацію та стабільність mTORC2. Незважаючи на досить велику кількість даних про структуру та функції комплексу mTORC2, загальна картина є неповною, оскільки багато питань залишаються відкритими. Зокрема, нещодавно за даними структурного та біохімічних аналізів стало відомо, що комплекс mTORC2 знаходиться в клітині у вигляді димера, але як саме це впливає на його функціонування залишається невідомим. Дані про архітектуру взаємодії між білками всередині комплексу є важливими, оскільки дадуть змогу виявити окремі фактори, що призводять до відхилень у функціональності комплексу в цілому. Це, в свою чергу, дозволить розробити методи попередження розвитку патологій, які виникають на основі некоректної роботи mTORC2.

Метою нашої роботи було визначення клітинної лінії, в якій рівень синтезу ендогенного білка rictor є найбільш високим. Для реалізації поставленого нами завданнями ми спершу наростили достатню кількість клітин різних ліній ссавців для отримання препаративної кількості лізатів клітин. Зокрема, в роботі були використані клітини лінії MEF (мишачі ембріональні фібробласти) та NIH3T3 (ембріональні фібробласти мишей), MCF7 (клітини інвазивної карциноми протоків молочної залози), HeLa (клітини раку шийки матки), HEP2G (клітини гепатоцелюлярної карциноми людини) та HEK293 (ембріональні клітини нирки людини). Контроль якості обраних ліній клітин ссавців проводили шляхом

цитологічного аналізу їх морфологічних особливостей під час культивування шляхом фарбування клітинних ліній за методом Май-Грюнвальда-Гімза. Всі використані лінії клітин за результати цитологічного аналізу були однорідними культурами.



Доріжки 1 – 6: клітини ліній MCF7, HeLa, HEP2G, MEFs, NIH3T3, HEK293, відповідно

Рис. 1. Аналіз рівня синтезу ендогенного білка Rictor в лізатах клітин методом Вестерн-блотинга з використанням моноклональних антитіл проти N-кінцевого фрагменту білка Rictor.

Джерело: розроблено авторами

Наступним етапом роботи був аналіз рівня синтезу ендогенного білка Rictor в різних лініях клітин. Після лізування клітин, визначали концентрацію тотального білка методом Бредфорда і проводили розведення розчинів до рівних концентрацій білка у них. Для розділення білків за молекулярною масою проводили електрофорез у денатуруючих умовах за методикою Лемлі. Після цього було застосовано метод Вестерн-блотингу з використанням високо специфічних моноклональних антитіл до N-термінальної ділянки білка Rictor, попередньо отриманих в нашій лабораторії. В результаті проведеного експерименту було показано, що найбільш оптимальною клітинною лінією, що відповідає нашим вимогам (має високий рівень синтезу

ендогенного білка Rictor), є лінія ембріональних клітин нирки людини HEK293.

Список використаних джерел:

1. Laplante M., Sabatini D. M. mTOR Signaling in Growth Control and Disease // Cell. – 2012. – Vol. 149, N.2. – P. 274–293.
2. Kapahi P., Chen D., Rogers A.N. et al. With TOR, less is more: a key role for the conserved nutrientsensing TOR pathway in aging // Cell Metab. – 2010. – Vol. 11, N.6. – P. 453–465.
3. Jacinto E., Loewith R., Schmidt A. et al. Mammalian TOR complex 2 controls the actin cytoskeleton and is rapamycin insensitive // Nat. Cell Biol. – 2004. – Vol. 6, N.11. – P. 1122–1128.

Фролова Н.В.

студент;

Кмець А.М.

асистент,

*Глухівський національний педагогічний університет
імені Олександра Довженка*

ОРНІТАФАУНА ПРИРОДНИХ ЕКОСИСТЕМ ПІВНІЧНОГО ЛІВОБЕРЕЖЖЯ УКРАЇНИ НА ПРИКЛАДІ СУМСЬКОЇ ОБЛАСТІ

Взаємодія людини і навколишнього середовища – головна проблема ХХІ століття. Сучасну екологічну ситуацію в Україні можна вважати вкрай задовільною. Екологічна криза продовжує поглиблюватись та поширюватись, яка зумовлена зростанням техногенних аварій через застаріле обладнання, низька ефективність або