

Использование данных векторных конструкций с GFP позволит визуально оценивать эффективность работы и подбирать оптимальные условия активации регуляторной системы при разных условиях существования трансгенных микроорганизмов: в свободноживущем состоянии, при культивировании на питательных средах с добавлением экссудатов корней различных растений, при взаимодействии трансгенных бактерий с поверхностями корней бобовых и небобовых растений.

Работа была выполнена в рамках госзадания (тема № АААА-А16-116020350028-4) при финансовой поддержке грантов Российского фонда фундаментальных исследований № 18-34-00033 мол_а, № 18-34-20004 мол_а_вед.

ЛИТЕРАТУРА

1. Andrews M., et al. Specificity in legume-rhizobia symbioses // Int. J. Mol. Sci. 2017. 18(4): 705. doi:10.3390/ijms18040705.
2. Mehboob I., Naveed M., Zahir A.Z. Ashraf M. Potential of Rhizobia for Sustainable Production of Non-legumes // Crop Production for Agricultural Improvement. Springer Netherlands. 2012. P.659–704.
3. C. Liu, J.D. Murray. The Role of flavonoids in Nodulation Host-Range Specificity: An Update // Plants (Basel). 2016. 5(3):33. doi: 10.3390/plants5030033.
4. Тихонович, И.А., Проворов, Н.А. (2009). Симбиозы растений и микроорганизмов: молекулярная генетика агросистем будущего. Издательство Санкт-Петербургского университета. С. 209.
5. Suominen L. et al. Activation of the nodA promoter by the nodD genes of Rhizobium galegae induced by synthetic flavonoids or Galega orientalis root exudate // FEMS Microbiol. Lett. 2003. V. 219(2). P. 225–232.
6. Suominen L., Roos C., Lortet G., Paulin L., Lindström K. Identification and structure of the Rhizobium galegae common nodulation genes: evidence for horizontal gene transfer // Mol. Biol. Evol. 2001. V. 18(6). P. 907–916..

УДК 57.577

ДЕТЕКЦИЯ ПРОМУТАГЕННЫХ ДЕЗАМИНАЗ СЕМЕЙСТВА AID/АРОВЕС В КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ

Е.С. Шилов, А.А. Власова, О.Н. Шилова

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Цитидин-дезаминазы семейства AID/АРОВЕС являются ключевыми участниками процессов индуцированного мутагенеза и редактирования РНК. Их повышенная активность свойственна клеткам многих опухолей и является одним из механизмов геномной нестабильности. В данной работе был определен уровень экспрессии генов цитидин-дезаминаз AID/АРОВЕС человека в трех клеточных линиях В-лимфобластного происхождения: IM-9 (CCL-159), Daudi (CCL-213) RPMI 8226 (CCL-155). IM-9 по своему происхождению представляют собой клетки множественной миеломы, трансформированные вирусом EBV, Daudi ведут происхождение от лимфомы Бёркита, RPMI являются производными плазматомы, в качестве контроля специфичности экспрессии дополнительно использовали линию HeLa (производная рака шейки матки). В работе анализировался уровень экспрессии характерной для активированных В-лимфоцитов дезаминазы AID (ключевой фермент в процессах переключения изотипа антител и соматического мутагенеза, кодируется геном *Aicda*), а также АРОВЕС1, АРОВЕС2 и АРОВЕС3 (восемь паралогов, обозначаются буквами от А до Н).

Было показано, что в ряду RPMI 8226 – Daudi – IM-9 уровень экспрессии AID при каждом переходе повышается примерно на порядок, в клетках HeLa экспрессия AID отсутствует. Экспрессия АРОВЕС1 и АРОВЕС2 отсутствует во всех проанализированных клеточных линиях, а экспрессия АРОВЕС3 несколько варьирует в зависимости от паралога и клеточной линии, но в целом демонстрирует стабильный паттерн – преобладание паралогов 3С, 3D и 3G. Специфической для линии Daudi была экспрессия АРОВЕС 3F, а для линии IM-9 – соответственно АРОВЕС 3Н, линии RPMI 8226 и HeLa других АРОВЕС3-дезаминаз помимо 3С, 3D и 3G не экспрессировали. При этом экспрессия дезаминаз в клетках лимфоидных линий являлась конститутивной и не зависела от сигналов активации через рецепторы врожденного иммунитета – активация клеток при помощи липополисахарида, полного адьюванта Фрейнда и тотального лизата кишечной палочки не приводила к принципиальным изменениям паттерна экспрессии.

В работе показано, что исходный характерный для В-лимфоцитов паттерн экспрессии дезаминаз AID/АРОВЕС сохраняется в клеточных линиях, однако уровень экспрессии AID в разных лимфобластоидных линиях может значительно варьировать, влияя на их нестабильность генома.

Работа поддержана грантом РФФИ № 19-34-51014