

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-232

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ БЕЛКА NBAS В ФИБРОБЛАСТАХ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА
И ИММОРТАЛИЗОВАННЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ****IDENTIFICATION OF NBAS PROTEIN IN HUMAN SKIN FIBROBLASTS
AND IMMORTALIZED CELL LINES**

А. А. Гурьев, М. Т. Саввина

Северо-Восточный федеральный университет им М.К. Аммосова, Якутск

А. А. Guryev, M. T. Savvina

Ammosov North-Eastern Federal University, Yakutsk

✉kotetolya@gmail.com

Аннотация

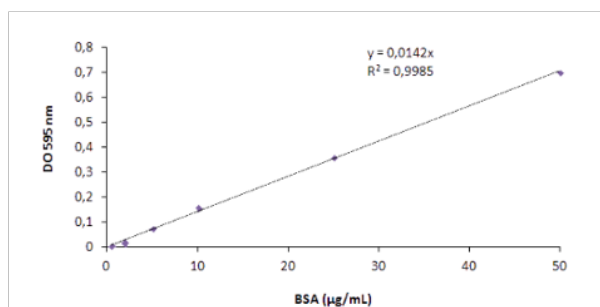
Белок NBAS является частью комплекса синтаксина 18 (STX18), нарушение функции которого приводит к различным патологическим состояниям, одно из которых — SOPH-синдром. Исследование белка NBAS будет весьма актуальным и способствует раскрытию молекулярных механизмов патогенеза и фундаментальным исследованиям с целью выявления терапевтических таргетов данного заболевания.

Abstract

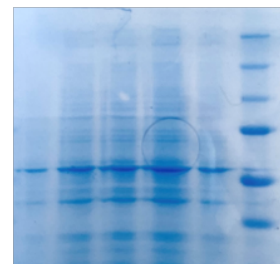
The NBAS protein is part of the syntaxin 18 (STX18) complex and its dysfunction leads to various pathological conditions, one of which is SOPH syndrome. The study of the NBAS protein will be very relevant and will contribute to the disclosure of the molecular mechanisms of pathogenesis and fundamental research to identify therapeutic targets for this disease.

SOPH-синдром — моногенное заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, для которого характерны низкий рост, атрофия зрительных нервов, пельгеровская аномалия лейкоцитов. В популяции якутов Республики Саха (Якутия) встречается с частотой 18 : 100 000. Вызывается мутацией, локализованной в G5741 → → A (R1914H) С-терминале гена NBAS. Белок NBAS является частью комплекса синтаксина 18 (STX18), который участвует в ретроградном транспорте везикул из аппарата Гольджи (аГ) до эндоплазматического ретикулума.

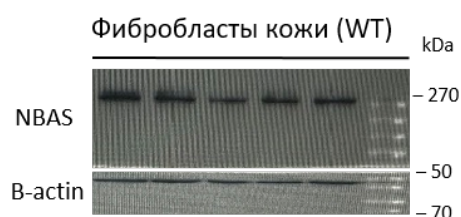
а



б



в



Детекция белка NBAS дикого типа в фибробластах кожи: а — измерение общей концентрации белка в лизате клеток по Брэдфорду, б — электрофорез на полиакриламидном геле, в — иммуноблоттинг

Целью работы является определение белка NBAS в фибробластах кожи человека и клеточных линиях Hela. Первичные культуры фибробластов кожи были получены на 14-е сутки после посадки биоптата на чашу петри. Для культивирования использовалась среда DMEM с высоким содержанием глюкозы и пирувата натрия (с добавлением бычьей сыворотки и смеси антибиотиков), инкубация проводилась в 37 °C содержанием CO 5 %. Для лизиса клеток был использован буфер RIPA. Ингибитор протеазы PMSF добавлялся непосредственно перед лизисом. Для количественного анализа общего белка был применен метод по Брэдфорду. Пул из выделенных белков был разделен на 7,5%-м полиакриламидном геле путем электрофореза. Перевод белков с геля на мембрану был проведен мокрым методом с использованием PVDF-мембраны. Для иммуноблоттинга использовались первичные антитела Anti-NBAS поликлональные, кроличьи, Abcam (США), вторичные антитела против кролика, Servicebio. На рисунке видно разделение белков разного размера. На уровне выше 260 кДа визуализировался белок NBAS, что свидетельствует о его хорошей экспрессии в клетках у здорового индивида. Также он определялся и в клетках Hela, что говорит о значимости данного белка в разных типах клеток. Продолжаются исследования, посвященные анализу экспрессии белка NBAS в фибробластах кожи, полученных от больных SOPH-синдромом, и вклада мутации с.5741G>A в ген NBAS, экспрессирующий данный белок.

Последующее изучение данного белка и взаимодействующих в комплексе с ним белков в патологических состояниях, например у больных с SOPH-синдромом, будет весьма актуальным и способствует раскрытию молекулярных механизмов патогенеза и фундаментальным исследованиям с целью выявления терапевтических таргетов данного заболевания.