



# СТАБИЛЬНОСТЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ДОМАШНЕГО ХОЗЯЙСТВА В МОЗГЕ ЮВЕНИЛЬНЫХ КРЫС В МОДЕЛИ ПЕНТИЛЕНТЕТРАЗОЛ-ИНДУЦИРОВАННОГО ЭПИЛЕПТИЧЕСКОГО СТАТУСА

А.П. Шварц, Коваленко А.А., Малыгина Д.А., Постникова Т.Ю., Зубарева О.Е., Зайцев А.В.

## Актуальность темы

### RT-qPCR

- Обратная транскрипция (Reverse Transcription) с последующей количественной полимеразной цепной реакцией (qPCR, ПЦР в реальном времени) - «Золотой стандарт» для малопоточной оценки экспрессии генов
- Качественный анализ данных ОТ-ПЦР требует адекватного выбора надёжных референсных генов для нормализации относительной экспрессии генов интереса

The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments  
Stephen A Bustin, Vladimir Benes, Jeremy A Garson, Jan Hellems, Jim Huggett, Mikael Kubista, Reinhold Mueller, Tania Nolan, Michael W Pfaffl, Gregory L Shipley... Show more  
Clinical Chemistry, Volume 55, Issue 4, 1 April 2009, Pages 611-622.  
https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797  
Published: 01 April 2009

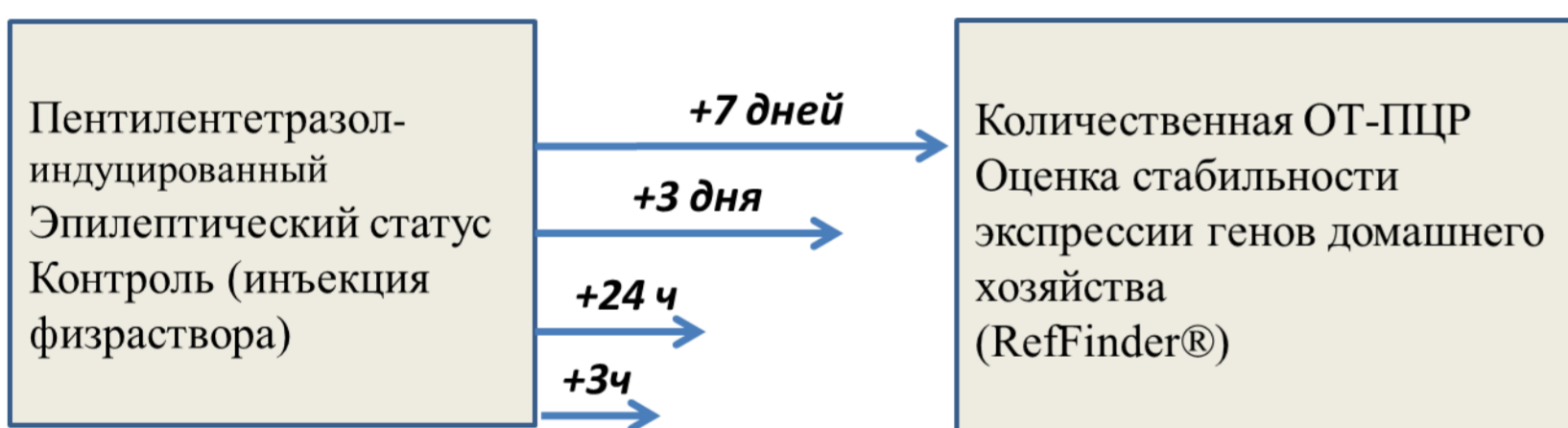
Talking the talk, but not walking the walk: RT-qPCR as a paradigm for the lack of reproducibility in molecular research.  
Bustin S, Nolan T.  
Eur J Clin Invest. 2017 Oct;47(10):756-774. doi: 10.1111/ecl.12801. Epub 2017 Sep 2.  
PMID: 28796277 Review  
Despite the impact of the minimum information for the publication of quantitative PCR experiments (MIQE) guidelines, which aim to improve the robustness and the transparency of reporting of RT-qPCR data, we demonstrate that elementary protocol errors, inappropriate data an...

**Цель работы – оценить стабильность экспрессии генов домашнего хозяйства в мозге неполовозрелых крыс в модели острого эпилептического статуса, индуцированного пентилентетразолом**

## Схема эксперимента



Вистар P20-22

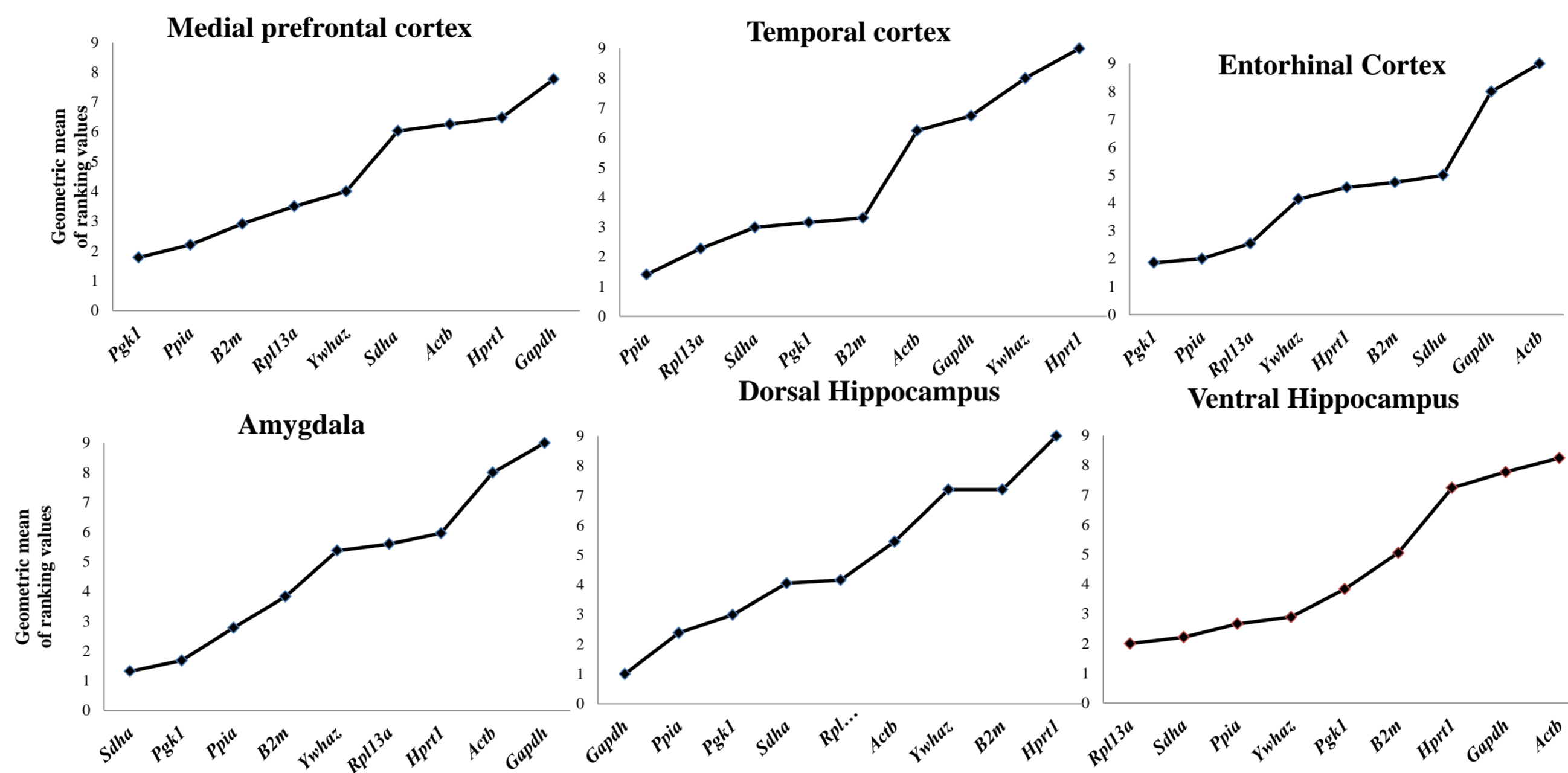


## Характеристика исследованных генов

Ген	№ мРНК в БД RefSeq	Кодируемый белок	Функция
Gapdh	NM_017008	Глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназа, GAPDH	Оксидоредуктаза в гликолизе
Ppia	NM_017101	Пептидил-пролил Цис-транс-изомераза (циклофилин) А, СусА, СурА	Фолдинг белка
B2m	NM_012512	β-2-микроглобулин, B2M	Компонент главного комплекса гистосовместимости МНС I
Actb	NM_031144	β-актин	Структурный компонент цитоскелета
Ywhaz	NM_013011	Белок 14-3-3 ζ	Вовлечен в процессы сигналинга
Rpl13a	NM_173340	Рибосомный белок L13A	Структурный компонент большой субъединицы рибосомы
Pgk1	NM_053291	Фосфоглицераткиназа 1	Субстратное фосфорилирование в гликолизе
Hprt1	NM_012583	Гипоксантин-фосфорибозил-трансфераза 1	Синтез пуринов путём реутилизации
Sdha	NM_130428	Субъединица А сукцинатдегидрогеназы	Компонент цикла Кребса и электрон-транспортной цепи митохондрий

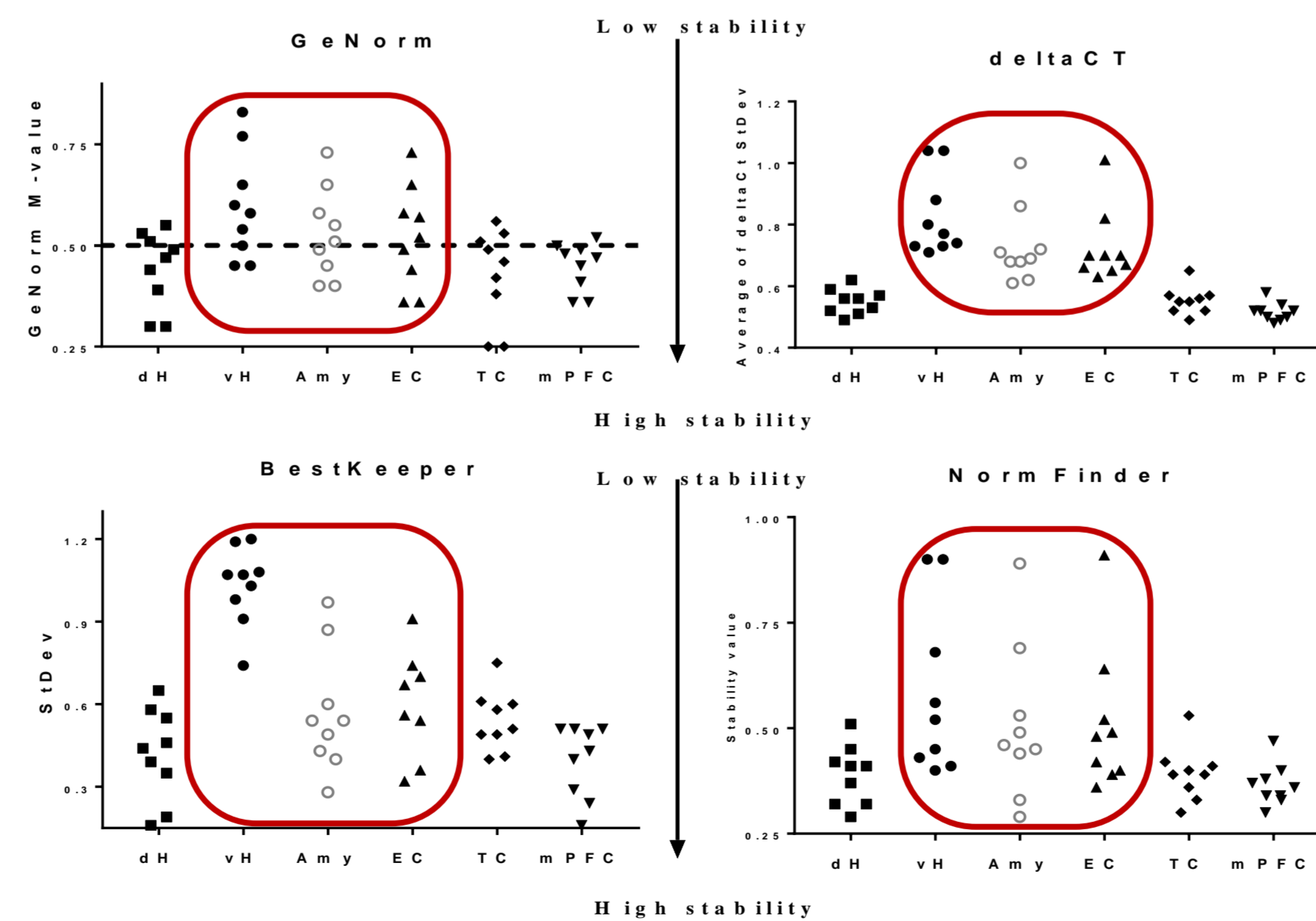
## Результаты

Ранги стабильности различаются в зависимости от исследуемой области



Показатели стабильности различаются в зависимости от исследуемой области

В медиальной префронтальной и височной областях коры, дорзальном гиппокампе экспрессия большинства исследованных генов была стабильна

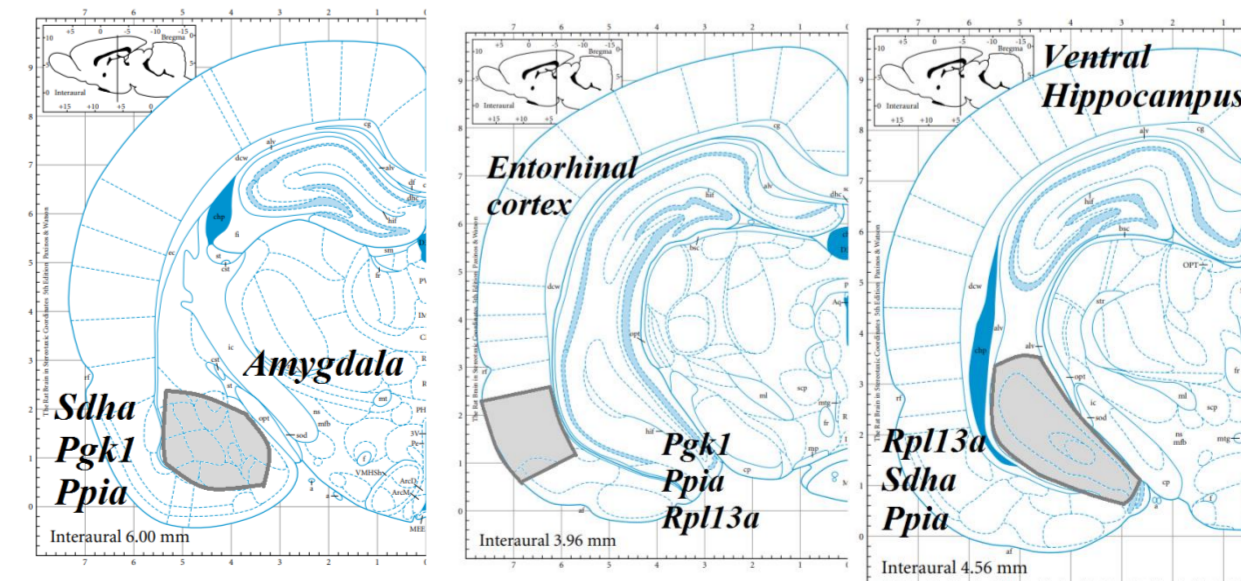


В вентральном гиппокампе, энторинальной коре и амигдале экспрессия генов домашнего хозяйства после пентилентетразол-индуцированного эпилептического статуса малостабильна:

- Области чувствительные к провоцирующим судороги воздействиям; могут быть эпицентром распространения эпилептиформной активности;
- Клетки вентрального гиппокампа легче генерируют эпилептиформную активность в проэпилептическом растворе;
- Вентральный гиппокамп более чувствителен к стрессу

Aroniadou-Anderjaska, Vassiliki, et al. "Pathology and pathophysiology of the amygdala in epileptogenesis and epilepsy." *Epilepsy research* 78.2-3 (2008): 102-116.

Vismer, Marta S., et al. "The piriform, perirhinal, and entorhinal cortex in seizure generation." *Frontiers in neural circuits* 9 (2015): 27.



Isaeva, Elena, et al. "Status epilepticus results in region-specific alterations in seizure susceptibility along the hippocampal longitudinal axis." *Epilepsy research* 110 (2015): 166-170.

Gulyaeva, Natalia V. "Functional neurochemistry of the ventral and dorsal hippocampus: stress, depression, dementia and remote hippocampal damage." *Neurochemical research* 44.6 (2019): 1306-1322.

Поддержано РФ, грант № 16-15-10202; А.П. Шварц является получателем Стипендии Президента РФ молодым учёным и аспирантам на 2019-21 гг.(СП-743.2019.4)



Российский научный фонд



Совет по грантам Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых и по государственной поддержке ведущих научных школ Российской Федерации