

АННОТАЦИЯ

выпускной квалификационной работы по теме

"Влияние наличия G-квадруплекса на трансляцию мРНК"

Исполнитель: студент 401 группы медико-биологического факультета Волгоградского государственного медицинского университета Василий Олегович Бородин (направление подготовки «Биология», профиль «Генетика»).

Научный руководитель: доцент кафедры молекулярной биологии и генетики, к.б.н. Ирина Борисовна Захарова.

Научный консультант: младший научный сотрудник группы регуляции биосинтеза белка Института Белка РАН, Дмитрий Николаевич Поляков.

Сроки выполнения: 2017-2018 уч. год.

Цель исследования: Оценить влияние G-квадруплекса в мРНК на регуляцию трансляции мРНК.

Задачи исследования:

1. Проанализировать базы данных и научные источники для подбора актуальных матричных РНК (мРНК), содержащих гуанидиновые квадруплексы (G4);
2. Создать векторные конструкции для транскрипции *in vitro*, содержащие некодирующие области подобранных мРНК и кодирующую область люциферазы;
3. Создать аналогичные векторные конструкции для транскрипции *in vitro*, содержащие мутации, нарушающие консенсус G4;
4. Нарботать *in vitro* мРНК с полученных конструкций;
5. Трансфецировать полученными мРНК культуры эукариотических клеток;
6. По люминесценции люциферазы оценить уровень трансляции в клетках полученных мРНК;
7. По разнице в уровне трансляции между мРНК с G4 и её мутантным аналогом сделать вывод о влиянии G4 на трансляцию полученных мРНК.

Дизайн исследования:

- I. На первом этапе при помощи литературных источников проводится отбор перспективных для изучения мРНК, для которых наличие G4 было показано полнотранскриптомным секвенированием, но не подтверждено индивидуально. Приоритет отдается тем мРНК, в которых G4 находится в 5' или 3' нетранслируемых областях (НТО), так как именно в этих участках мРНК чаще всего располагаются регуляторные элементы.
- II. На втором этапе подбираются праймеры для клонирования НТО отобранных мРНК, проводится полимеразная цепная реакция (ПЦР), обработка продуктов ПЦР и исходного плазмидного вектора, содержащего кодирующую область люциферазы, эндонуклеазами рестрикции и лигирование вектора и продукта ПЦР для получения конечных плазмидных векторов. Также подбираются праймеры для получения

- мутаций, нарушающих структуру квадруплекса, проводится ПЦР для получения мутантных НТО и по приведенной выше схеме получают конечные конструкции.
- III. На третьем этапе исследования проводится транскрипция в бесклеточной системе с полученных конструкций для наработки мРНК.
- IV. На четвертом этапе проводится трансфекция полученных мРНК в культуру клеток эукариот, после чего по люминесценции люциферазы определяется эффективность трансляции каждой мРНК.
- V. На завершающем этапе проводится анализ полученных данных и делаются выводы о наличии статистически значимой зависимости эффективности трансляции от наличия или отсутствия G4 в мРНК.

Предлагаемые пути решения задач:


1. Будут выбраны мРНК, образующие G4 структуры, основываясь на информации базы данных PUBMED и литературных данных о полнотранскриптомном секвенировании G4.
2. Будут синтезированы праймеры для клонирования и праймеры для сайт-направленного мутагенеза НТО выбранных мРНК, проведена рестрикция и лигирование НТО фрагментов в вектор с кодирующей областью люциферазы.
3. Нарботка исследуемой мРНК будет производится в наборе для бесклеточной транскрипции.
4. Эффективность трансляции каждой мРНК будет определяться по люминесценции люциферазы после трансфекции эукариотических клеток.

Исполнитель:

Студент направления подготовки «Биология»

профиль «Генетика»

В.О. Бородин


 24.10.18

Научный руководитель:

доцент кафедры молекулярной биологии и генетики,

к.б.н.

И.Б. Захарова


 24.10.18

Научный консультант:

младший научный сотрудник группы регуляции биосинтеза белка

Института Белка РАН

Д. Н. Поляков

 24.10.18