

L-NAME ცვლის უჯრედულ პასუხს ჰიპოქსიაზე
არადიფერენცირებულ/დიფერენცირებულ PC-12 უჯრედებში H-Ras-ის
პოსტტრანსლაციური მოდიფიკაციის გზით

დავით რუხაძე

*სამაგისტრო ნაშრომი წარდგენილია ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის
საბუნებისმეტყველო მეცნიერებებისა და მედიცინის ფაკულტეტზე ბიოფარმაციის
მაგისტრის აკადემიური ხარისხის მინიჭების მოთხოვნების შესაბამისად*

*სიცოცხლის შემსწავლელ მეცნიერებათა სამაგისტრო პროგრამა (ეკოლოგია,
მოლეკულური ბიომეცნიერებები, ნეირომეცნიერებები)*

მიმართულება - ბიოფარმაცია

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: ასოცირებული პროფ. თამარ ბარბაქაძე

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი

თბილისი, 2019

აბსტრაქტი

მიზნები: ჩვენი მიზანი არის გამოვიკვლიოთ ჰიპოქსიის დროს H-Ras - ის პოსტრანსლაციური მოდიფიკაციების როლი და NO სინთაზას (nNOS) გავლენა უჯრედულ პასუხზე. ჩვენ გამოვთქვით ჰიპოთეზა, რომ nNOS ინჰიბიცია ცვლის H-Ras-ის ტერმინალური ცისტეინის S-ნიტროზილირებას და პალმიტირებას, აგრეთვე აინდუცირებს H-Ras - ის მისლოკაციას, შესაბამისად ეს ყველაფერი იძლევა განსხვავებულ უჯრედულ პასუხს ჰიპოქსიის დროს.

ჰიპოქსია-იშემიური სტრესი იწვევს ტვინის მწვავე დაზიანებებს, რასაც მოჰყვება, ცხოვრების ხარისხის დაქვეითება ან უარეს შემთხვევაში ლეტალობა. შემცირებული გლუკუზა-ჟანგბადის დონე მნიშვნელოვნად წევს აზოტის ოქსიდის (NO) დონეს და nNOS - ს აქტივობას. იშემიურის ინსულტს მოჰყვება შედეგად მცირე ზომის Ras-GTP-აზების გააქტივება, რომელიც მოქმედებს როგორც შინაგანი გადამრთველი გადარჩენა/რეგენერაციის გზებში. H-Ras-ის აღნიშნული მოქმედება იძლევა შესაძლებლობას, რომ თერაპიულად დავარეგულიროთ მისი ქმედება იშემიურის ინსულტის შემდეგ, უჯრედთა რეგენერაციისთვის. H-Ras-ის C-ტერმინალურ ბოლოზე იმყოფება ცისტეინის ნაშთები (C181 და C184), რომლებიც არიან პალმიტირებულები ერთჯერ ან ორჯერ. პალმიტირება მას აძლევს საფუძლვეს, რომ შეინარჩუნოს სტაბილური ლოკალიზაცია პლაზმურ მემბრანაზე. ჩვენ გამოვიკვლიეთ nNOS ინჰიბიტორის, L-NAME-ს გავლენას მემბრანა დაკავშირებულ S-ნიტროზილირებულ/პალმიტირებულ H-Ras-ზე ჰიპოქსია/ნორმოქსიის დროს არადიფერენცირებულ/დიფერენცირებულ უჯრედებზე.

მეთოდები: ჩვენ გამოვიყენეთ ვესტერნ - ბლოტინგის მეთოდი რათა დაგვედგინა სამიზნე პროტეინების რაოდენობა. სუქცინატის განმსაზღვრელი კიტი სუქცინატის განსასაზღვრად და LDH ციტოტოქსიკური კიტი LDH-ის განსასაზღვრათ.

შედეგები: ჩვენ დავასკვნით, რომ L-NAME ამცირებს მემბრანადაკავშირებული პალმიტირებული H-Ras-ის და ნიტროზილირებული H-Ras რაოდენობას არადიფერენცირებულ PC-12 უჯრედებში ნორმოქსიის დროს. დიფერენცირებულ უჯრედებში PC-12 უჯრედები ცვლის მხოლოდ მემბრანადაკავშირებულ ნიტროზილირებულ H-Ras. ჰიპოქსია აინდუცირებს პალმიტირებული H-Ras - ის

ზრდას და ამცირებს L-NAME -ით გამოწვეულ ეფექტს. L-NAME ამცირებს HIF-1-alpha- ს აქტივობას, შესაძლო გარზრდით ციტოპლაზმური სუქცინატის, შედეგად მცირდება უჯრედთა ციტოტოქციკურობა ჰიპოქსიის დროს დიფერენცირებულ PC-12 უჯრედებში.

დასკვნა: L-NAME - ინდუცირებული H-Ras -ის მისლოკაცია ცვლის უჯრედებულ პასუხს დიფერენცირებულ PC-12 უჯრედებში ჰიპოქსიის დროს.

საკვანძო სიტყვები: უჯრედული ჰიპოქსია, აზოტის ოქსიდი, H-Ras, სუქცინატი