

Ленкова А. А., Александрова В. А.

СПОСОБ ИЗМЕРЕНИЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТА ЦИТИНДЕЗАМИНАЗЫ СПЛЕНОЦИТОВ МЫШИ

Научный руководитель магистр мед. наук, асп. Павлов К. И.

Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Актуальность. Фермент цитидиндезаминаза ответственен за трансформацию дезоксицитидина нуклеиновых кислот в уридин посредством отщепления аминокислотной группы в цинксодержащем каталитическом центре. При этом, бывший комплементарным дезоксицитидину во второй цепи дезоксигуанидин меняется на аденозин или тимидин ферментами рестриктазами. Данный процесс является одним из ключевых механизмов пиримидинового метаболизма, а сам фермент помимо биodeградации нуклеозидов выступает основным внутриклеточным мутагеном и одним из триггеров процессов репарации ДНК и деметилирования. Цитидиндезаминаза содержится в В-лимфоцитах, нейтрофилах, моноцитах, нейронах, ткани печени и почек, а также клетках плаценты. В В-лимфоцитах цитидиндезаминаза ответственна за образование соматических гипермутаций и переключение класса синтеза генов иммуноглобулинов. Соматические гипермутации происходят в «горячих точках» вариабельных участков генов тяжёлых цепей иммуноглобулинов. В результате последовательно возрастает аффинность специфичных антител к антигену. Спектр субстратов довольно широк и включает как мотивы ДНК-последовательности, так и минорные нуклеозиды. «Оборот» фермента зависит от фосфорилирования по серину в 38-м положении. Дефекты в системе соматических гипермутаций могут вызывать снижение гуморального иммунного ответа, гиперактивность же, напротив, чревата повреждением ДНК и онкогенезом.

Цель: изучить базальное значение внутриклеточной активности цитидиндезаминазы у мышей C57BL/6 для последующего исследования поствакцинального иммунного ответа.

Материал и методы. Индофенольная колориметрическая реакция, спектрофотометрические и колориметрические тесты.

Результаты. Предложена методика получения суспензии спленоцитов мыши, дезагрегации клеток и исследования активности фермента-индуктора соматических гипермутаций - цитидиндезаминазы. Использован ряд изменяемых параметров для режима инкубации ферментно-субстратной суспензии.

Заключение. Исследование активности цитидиндезаминазы непосредственно клеток, вовлечённых в гуморальный иммунный ответ, может позволить правильно интерпретировать уровни активности этого фермента в плазме, что может повысить клиническую значимость данного теста.