

GALVIJŲ GLYCERALDEHYDO-3-FOSFATO-DEHYDROGENAZĒS (GAPGDH) EKSPRESIJA ATVIRKŠTINĒS TRANSKRIPCIJOS (RT-PGR) METODU

Z. Smolkina, A. Karus

*Estonian Agricultural University, Institute of Animal Science, Kreutzwaldi 1, TARTU 51014;
Phone/fax.: +372 742 1657; E-mail: chem@eau.ee*

Santrauka. Genų ekspresinės analizės metodai yra svarbūs biologijos mokslų tyrimams. Vienas dažniausiai taikomų metodų, pasižymintis dideliu našumu ir tikslumu atliekant genų ekspresiją, yra atvirkštinės transkriptazės polimerazės grandinės reakcija (RT-PGR). Šio tyrimo tikslas – atlikti gliceraldehido-3-fosfato-dehidrogenazės (GAPDH) ekspresijos lygio matavimą su insulino augimo faktoriaus 1 (IGF -1) genu. Siekiant kompensuoti naudojamos RNR kiekio įvairumą ir atvirkštinės transkriptazės efektyvumą, įvairūs reti genai buvo ištirti kiekybiškai, o rezultatai buvo sunorminti pagal gautas vertes. Tačiau norminimas naudojant šiuos genus daugeliu IGF-1 tyrimų atvejų buvo nesėkmingas. Buvo išmatuota GAPGDH ekspresija įvairiuose galvijų audiniuose, kraujyje, kepenyse ir skeleto raumenyse panaudojant „Roche“ firmos rinkinius. Eksperimentuojama buvo pagal RT-PCR LightCycler technologiją. GAPGDH ekspresijos nustatymas su SYBR Green I buvo atliktas ir gauti teigiami rezultatai ($R=1,0$; paklaida error = 0,098). Didžiausia genų ekspresija aptikta galvijų raumenyse. Straipsnyje pateiktos kiekybinio tyrimo protokolo pakeitimo rekomendacijos. Geno kiekybinei analizei efektyviausia temperatūra 84–85°C.

Raktažodžiai: GAPDH-gliceraldehido-3-fosfato-dehidrogenazė, IGF-1 –insulino augimo faktorius 1, RT-PCR - atvirkštinės transkriptazės polimerazės grandinės reakcija.