**ВИВЧЕННЯ Т-138→С-ПОЛІМОРФІЗМУ ПРОМОТОРУ МАТРИКСНОГО GLA –ПРОТЕЇДУ**

**У ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ КОРОНАРНИЙ СИНДРОМ**

*Гарбузова В.Ю., Дубовик Є., студ. 3-го курсу*

*СумДУ, кафедра фізіології і патофізіології з курсом медичної біології*

Матриксний Gla-протеїд (MGP) – вітамін К-залежний пептид, що складаеться із 84 амінокислот, вперше був виділений із кісток. Сьогодні виявлений високий рівень експресії цього білка в серці, нирках, підшлунковій залозі, легенях, плаценті та ін. У судинах MGP є одним із потужних інгібіторів судинної кальцифікації. Згідно сучасних даних поліморфізм гена MGP асоційований з інфарктом міокарда і кальцифікацією атеросклеротичної бляшки.У просканованих 40 алелях було ідентифіковано 8 поліморфізмів гену MGP : 2 в екзонах (Lys 34 Glu, Thr 83 Ala) i 6 в промоторі (G -7 A, T -138 C, C -514 T, A -814G, G -2447A, C -2682T). Найбільший ступінь кореляції з вказаними патологіями має Т -138С поліморфізм (rs1800802). Було доведено, що поліморфний сайт Т -138С знаходиться у тому регіоні промотора, де відбувається приєднання ядерного білка, а заміна Т на С призводить до зменшення ступеня зв'язування ядерного білка з промотором. С -138 знижує активність промотора на 20% у ГМК щурів і на 50% у фібробластах людини. Т-138→С поліморфізм був вивчений для більшості европейських та японської популяції, проте для української популяції такі дані відсутні.

Дослідження виконано на 120 хворих на гострий коронарний синдром. Венозну кров набирали в стерильних умовах у моновети об’ємом 2,7 мл з калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти (11.7 мМ) в якості антикоагулянту (“Sarstedt”, Німеччина), заморожували та зберігали при температурі -20°С. ДНК виділяли з цільної крові із використанням наборів DIAtom DNA Prep («Isogene», Росія). Т-138→С поліморфізм промотору визначали методом полімеразної ланцюгової реакції (PCR) з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів (PCR-RFLP) за N.Kobayashi et al. із модифікаціями. Для цього ампліфікували ділянку промотору гена MGP за допомогою пари специфічних праймерів. Ампліфікація фрагменту промотору складалася з 36 циклів: денатурація - 94°С (50 с), гібридизація праймерів - 57°С (1 хв.) та елонгація - 72°С (1 хв). 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37°С протягом 18 годин з 5 ОД рестриктази BseNI (“Ферментас”, Литва) в буфері B наступного складу: 33 мМ трис-ацетату (рН 7.9), 10 мМ ацетату магнію, 66 мМ ацетату калію, 0.1 мг/мл альбуміну. За наявності в –138 положенні промотору тимідину BseNI розщеплює ампліфіковану ділянку промотору (розмір 142 пари основ) на два фрагменти – 118 та 24 пар основ, а при заміні на цитозин рестрикція не відбувається. Ампліфікати після рестрикції розділяли в 2,5 % агарозному гелі, що містив 10 мкг/мл бромистого етидію. Візуалізація ДНК після горизонтального електрофорезу (140 V протягом 25 хв.) проводилася за допомогою трансілюмінатору (“Біоком”, Росія) та відеосистеми ViTran (Росія).

Співвідношення нормальних гомозигот, гетерозигот і рідких гомозигот при аналізі Т-138→С поліморфізму промотору у хворих на гострий коронарний синдром складає 56,1%, 36,5% та 7,4% відповідно. Для з'ясування кореляції між вивченим поліморфізмом і гострим коронарним синдромом, у наступній серії дослідів планується проаналізувати його частоту у контрольній групі.