ISSN: 2181-4341, IMPACT FACTOR (RESEARCH BIB) – 9.145, SJIF – 5,431

Абдурахимова Ж.Б.

Алимухамедова О.Б.

Умарова Г.Б.

Абдурахманов Ж.М.

Институт химии растительных веществ имени акад. С.Ю. Юнусова

Академия наук Республики Узбекистан,

Национальный университет Узбекистана имени Мирзо-Улугбека

ОЦЕНКА ОГРАНИЧЕНИЙ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ GAPDH КАК РЕФЕРЕНСНОГО ГЕНА В RT-QPCR

Аннотация. Количественная полимеразная цепная реакция в реальном времени (RT-qPCR) является высокочувствительным методом анализа экспрессии генов, однако достоверность получаемых результатов напрямую зависит от корректной нормализации данных. В качестве внутреннего контроля широко используется ген GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase), который традиционно рассматривается как стабильный housekeeping-ген.

Современные исследования, однако, показывают, что экспрессия GAPDH может существенно изменяться под влиянием физиологических и патологических факторов, включая гипоксию, активацию сигнальных путей PI3K/AKT, а также регуляцию со стороны TP53 (p53). Дополнительно GAPDH участвует в множественных клеточных процессах, таких как апоптоз, стресс-ответ и регуляция метаболизма, что делает его экспрессию динамичной.

Таким образом, использование GAPDH в качестве универсального референсного гена требует критической оценки и экспериментальной валидации в каждой конкретной модели.

Ключевые слова: RT-qPCR, GAPDH, референсный ген, нормализация экспрессии, HIF-1, PI3K/AKT, p53, гипоксия, housekeeping-гены.

Введение. Количественная полимеразная цепная реакция в реальном времени (RT-qPCR) является одним из основных методов анализа экспрессии генов благодаря высокой чувствительности и специфичности. Однако точность данного метода определяется корректностью нормализации, для которой традиционно используются housekeeping-гены.

Ген GAPDH широко применяется как внутренний контроль благодаря его высокой и повсеместной экспрессии в клетках. Он кодирует фермент гликолиза glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase и участвует в базовом энергетическом обмене. Исторически GAPDH считался стабильным референсным геном, однако современные данные ставят под сомнение его универсальную стабильность.

Экспрессия GAPDH может изменяться под влиянием гипоксии, онкогенных процессов и метаболических перестроек, что требует переоценки его использования в RT-qPCR анализе.

Результаты. Анализ литературных данных показал, что экспрессия GAPDH не является постоянной величиной и зависит от ряда регуляторных факторов. При гипоксии наблюдается активация транскрипционного фактора HIF-1, который индуцирует экспрессию генов гликолиза, включая GAPDH.

Сигнальный путь PI3K/AKT способствует усилению гликолитической активности клетки, что также может приводить к повышению уровня GAPDH. В то же время опухолевый супрессор TP53 (p53) подавляет гликолиз и влияет на снижение экспрессии соответствующих метаболических генов.

Кроме того, GAPDH выполняет не только метаболическую, но и регуляторную функцию, участвуя в процессах апоптоза, ядерной транслокации и стресс-ответа клетки. Это подтверждает его функциональную многозначность и зависимость экспрессии от клеточного состояния.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что GAPDH не может рассматриваться как универсально стабильный референсный ген для RT-qPCR. Его экспрессия определяется сложным взаимодействием метаболических и регуляторных сигналов, включая гипоксию, онкогенные пути и стрессовые факторы.

В соответствии с рекомендациями MIQE, выбор референсных генов должен основываться на экспериментальной проверке их стабильности в конкретной биологической модели. Использование GAPDH без такой валидации может приводить к искажению результатов анализа экспрессии генов.

Список литературы:

1. Bustin S. A., Benes V., Garson J. A., Hellemans J., Huggett J., Kubista M., Mueller R., Nolan T., Pfaffl M. W., Shipley G. L., Vandesompele J., Wittwer C. T.
The MIQE guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments. *Clinical Chemistry.* 2009;55(4):611–622.
2. Vandesompele J., De Preter K., Pattyn F., Poppe B., Van Roy N., De Paepe A., Speleman F. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes.
Genome Biology. 2002;3(7):research0034.
3. Barber R. D., Harmer D. W., Coleman R. A., Clark B. J.
GAPDH as a housekeeping gene: analysis of GAPDH mRNA expression in a panel of 72 human tissues. *Physiological Genomics.* 2005;21(3):389–395.
4. Kozera B., Rapacz M. Reference genes in real-time PCR. *Journal of Applied Genetics.* 2013;54(4):391–406.
5. Semenza G. L. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine.
Cell. 2012;148(3):399–408.