

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 594.124:[577.124.22.044:546.21]

**ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ПИРУВАТКИНАЗЫ,
МАЛАТ- И ОКТОПИНДЕГИДРОГЕНАЗЫ
В ЖАБРАХ СРЕДИЗЕМНОМОРСКОЙ МИДИИ
MYTILUS GALLOPROVINCIALIS (LAMARCK, 1819)
В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ И РЕОКСИГЕНАЦИИ**

© 2024 г. А. О. Лантушенко*, А. С. Кохан**, А. А. Солдатов*, ** @,
И. В. Дегтяр*, А. Ю. Андреева**

*Севастопольский государственный университет, ул. Университетская 33, Севастополь, 299053 Россия

**Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН»,
"росп. Нахимова 2, Севастополь, 299011 Россия

@E-mail: alekssoldatov@yandex.ru

Поступила в редакцию 16.11.2023 г.

После доработки 01.03.2024 г.

Принята к публикации 01.03.2024 г.

Исследовали в условиях эксперимента влияние гипоксии на уровень экспрессии генов пируваткиназы (*PKM*), октопиндегидрогеназы (*OcDH*) и малатдегидрогеназы (*MDH*) в жаберной ткани средиземноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* (L., 1819). Контрольная группа моллюсков содержалась при 9–10°C и уровне кислорода в воде 8.5 мгО₂ л⁻¹. Опытная — при 9–10°C и 2.2 мгО₂ л⁻¹. Экспозиция — 24 и 72 ч. Часть особей в дальнейшем подвергалась процедуре реоксигенации. В условиях гипоксии происходило повышение уровня экспрессии генов *OcDH* и *MDH* соответственно в 3 и 2 раза ($p < 0.05$). При этом экспрессия *OcDH* проявляла чувствительность к содержанию кислорода в среде. В условиях реоксигенации процесс полностью подавлялся. Экспрессия гена *PKM*, напротив, не зависела от гипоксического воздействия и сохранялась на уровне контрольных значений.

Ключевые слова: *Mytilus galloprovincialis*, гипоксия, экспрессия генов, жабры, малатдегидрогеназа, октопиндегидрогеназа, пируваткиназа

DOI: 10.31857/S1026347024040113, **EDN:** VHCVFA

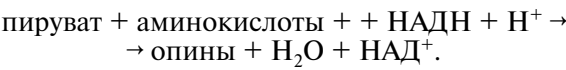
Основными причинами образования гипоксических и аноксических зон в шельфовых зонах Мирового океана являются низкая скорость диффузии кислорода и ограничение водообмена (Karstensen *et al.*, 2008; Paulmier, Ruiz-Pino, 2009). Часто это дополняют и процессы эвтрофикации, особенно в местах впадения крупных рек (Rabalais *et al.*, 2014). Ожидается, что в условиях глобального потепления число зон с критически низкой концентрацией кислорода будет только возрастать (Karstensen *et al.*, 2008; Paulmier, Ruiz-Pino, 2009). Это приведет к трансформации, прежде всего, донных сообществ и повысит роль организмов толерантных к условиям гипоксии.

Моллюски считаются одними из наиболее устойчивых организмов к дефициту кислорода. Это качество определяется их способностью переходить к гипометаболическим состояниям (Storey, Storey, 2004) и использовать на этом фоне эффективные

анаэробные стратегии, позволяющих поддерживать энергетический статус тканей (St-Pierre *et al.*, 2000; Le Moullac *et al.*, 2007). В условиях острой гипоксии (аноксии) у них отмечается сопряжение реакций гликолиза с процессами белкового обмена. В тканях повышается содержание соединений не свойственных аэробному обмену (аланин, сукцинат) (Buck, 2000), усиливается продукция NH₄⁺ (Chew *et al.*, 2005), растет активность аланин- и аспартатамино-трансфераз (Soldatov *et al.*, 2009).

Ряд авторов отмечают низкую активность лактатдегидрогеназы в тканях моллюсков при внешнем дефиците кислорода (Soldatov *et al.*, 2010). Это допускает образование иных гликолитических метаболитов, например, опинов (Vacchiocchi, Principato, 2000). Семейство опиндегидрогеназ (*OpDH*) широко представлено среди морских беспозвоночных, в основном представителей типов Mollusca и Annelida (Vázquez-Dorado *et al.*, 2013).

Они катализируют восстановительную реакцию конденсации пирувата и аминокислот с образованием опинов (Vázquez-Dorado *et al.*, 2013):



Среди них выделяется октопиндегидрогеназа (*OcDH*) (EC 1.5.1.11), проявляющая выраженное сродство к L-аргинину (Vázquez-Dorado *et al.*, 2011). В настоящее время доступны последовательности мРНК и кДНК для данного фермента (Endo *et al.*, 2007). Частично последовательности *OcDH* представлены в геномных базах для некоторых видов головоногих (Allcock *et al.*, 2007; Strugnell *et al.*, 2008) и двустворчатых моллюсков (Hollenbeck, Johnston, 2018). В ряде работ отмечен рост активности *OcDH* в тканях моллюсков при гипоксических состояниях (Storey, Dando, 1982). Активность *OcDH* была идентифицирована и в тканях представителей рода *Mytilus* (Storey, Dando, 1982), в том числе *Mytilus galloprovincialis* (Gosling, 1981).

Образование опинов позволяет решить проблему конечных токсических метаболитов (лактат), так как опины не оказывают столь выраженного влияния на величину тканевого рН (Zammit 1978). Об эффективности перестройки терминальных реакций гликолиза в тканях моллюсков в условиях дефицита кислорода можно судить и по уровню экспрессии соответствующих генов.

В настоящей работе, на примере средиземноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819), в условиях эксперимента исследуется влияние острых форм гипоксии на уровень экспрессии генов ряда дегидрогеназ: малат-, октопиндегидрогеназы (*MDH*, *OcDH*), а также пируваткиназы (*PKM*).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на взрослых особях средиземноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* (L., 1819). Длина раковины – 18.3±0.9 мм.

Моллюсков собирали с коллекторных установок в Мартыновой бухте (район Севастополя, Крым) и доставляли в аквариальную в сухих пенопластовых холодильных ящиках в течение 2–3 ч. На протяжении 14 суток их выдерживали в проточной воде для снятия состояния манипуляционного стресса. Кормление осуществлялось смесью микроводорослей по мере выедания.

Контрольная группа мидий содержалась при 9–10°C и уровне кислорода в воде 8.5 мгО₂ л⁻¹. Опытная – при 9–10°C и 2.2 мгО₂ л⁻¹. Экспозиция – 24 и 72 ч. Фотопериод – 12 ч день : 12 ч ночь. Содержание кислорода в воде понижали путем барботажа газообразным азотом. Контроль за содержанием кислорода в воде проводили при помощи оксиметра Ohaus Starter 300 D (США). По прошествии указанного времени часть особей подвергалась процедуре реоксигенации (барботаж воздухом) с восстановлением исходного уровня кислорода в воде и выдерживалась в данных условиях в течение 24 ч. Жабры моллюсков считаются наиболее чувствительной тканью к условиям водной среды (Soldatov *et al.*, 2014), поэтому они были выбраны в качестве объекта исследования. Образцы жабр получали на 24 и 72 ч эксперимента и после реоксигенации. Из каждой экспериментальной группы (контроль, суточная, трехсуточная гипоксия, реоксигенация) было отобрано по 8 особей на точку. Ткани извлекали на льду и сразу помещали в реагент для лизиса, гомогенизировали с помощью гомогенизатора Tissue Ruptor II (Quagen, Germany) и тут же проводили выделение РНК.

Общую РНК экстрагировали из жаберной ткани с использованием набора реактивов «РНК-ЭКСТРАН» (Синтол, Россия) в соответствии с протоколом производителя. Количество выделенной РНК проверяли на флуориметре Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, США). Чистоту полученной РНК определяли по соотношению A260/A280, полученному с помощью нанофотометра Implen (Германия). кДНК синтезировали с использованием набора Mint-2 (Евроген, Россия) в соответствии с протоколом производителя. Обратную

Таблица 1. Перечень праймеров, использованных в данной работе

Ген	Прямой праймер (5'–3')	Обратный праймер (5'–3')	Длина ампликона	Ссылка
<i>Ef-1</i>	CCTCCCACCATCAAGACCCA	GGCTGGAGCAAAGGTAACAAC	145	Giannetto et al., 2015
<i>OcDH</i>	CAGCATTTGCTCACGCTCAG	AACTGCTGGCTTTGTACCA	135	Vázquez-Dorado et al., 2011
<i>PKM</i>	CAAAGCGGCTGTATGTGTGG	ACATCTACAACATCTGATGGCTTTG	159	Данная работа
<i>MDH</i>	TCCAGCCAATACCAACGCAT	ACACCTAGCTTGGCTGCA AT	126	Данная работа

транскрипцию проводили в конечном объеме 15 мкл, содержащем 1 мкг очищенной общей РНК. В качестве референсного гена использовали *Ef-1*. Для выбора праймеров использовали литературные данные и транскрипты генов *MDH* (КФ 1.1.1.37), *OcDH* (КФ 1.5.1.11) и *PKM* (КФ 2.7.1.40), полученные авторами ранее (Andreyeva *et al.*, 2021). С помощью программы Primer Blast, выбирали праймеры для ампликонов с длиной около 150 н.п. (табл. 1). Эффективность каждой пары праймеров отображена в табл. 2.

Количественный ПЦР-анализ в реальном времени (RT-qPCR) проводили на амплификаторе ПЦР в реальном времени CFX96 (BioRad, США) с использованием набора qPCRMix-HS с красителем SYBR Green I (Евроген, Россия). Реакционная смесь (общий объем 25 мкл) содержала 1 мкл кДНК, по 1 мкл каждого праймера с концентрацией 10 мкМ, 5 мкл ПЦР-смеси qPCRMix-HS SYBR (Евроген, Россия) и 17 мкл деионизированной воды (MilliQ). Протокол реакции состоял из 3-минутной начальной денатурации при 95 °С, за которой следовали 44 цикла: 30 с при 95 °С, 30 с при 60 °С и 30 с при 72 °С. Также была выполнена кривая плавления продуктов ПЦР (65–95 °С (0.5 °С/с)), чтобы исключить наличие других продуктов. Все реакции проводили в трех технических повторностях. Для каждого эксперимента использовали отрицательный контроль без матрицы. Эффективность амплификации определяли путем построения стандартной кривой с последовательными разведениями кДНК. Для каждого измерения определяли пороговое значение *St*. Для расчета относительной экспрессии использовали метод $\Delta\Delta C_t$ (Livak, Schmittgen, 2001).

Статистические сравнения выполнены на основе непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Результаты представлены как $M \pm m$. В работе использовали стандартный пакет SigmaPlot (версия 12.5).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований представлены на рис. 1. Как видно, значительные изменения уровня экспрессии отмечались со стороны генов *MDH* и *OcDH*. В обоих случаях в условиях гипоксии (24 и 72 ч) отмечали рост значений соответственно в 2 и 3 раза ($p < 0.05$). После реоксигенации уровень экспрессии *OcDH* восстанавливался до исходных значений, тогда как экспрессия *MDH* сохранялась на относительно высоком уровне. При этом повышалась вариабельность регистрируемых значений.

Сведения об экспрессии *OcDH* весьма ограничены. В работах (Kimura *et al.*, 2004; Vázquez-Dorado *et al.*, 2011) описывается лишь клонирование и гетерологичная экспрессия *OcDH* из гепатопанкреаса *M. galloprovincialis*.

Таблица 2. Эффективность праймеров (%)

Условия эксперимента	<i>Ef-1</i>	MDG	ODH	PK
Контроль	97.7	94.5	90.2	98.0
Гипоксия, 24 ч	110.2	90.9	90.4	92.0
Гипоксия, 72 ч	93.0	101.0	99.0	95.6
Реоксигенация	92.6	96.6	96.7	94.6

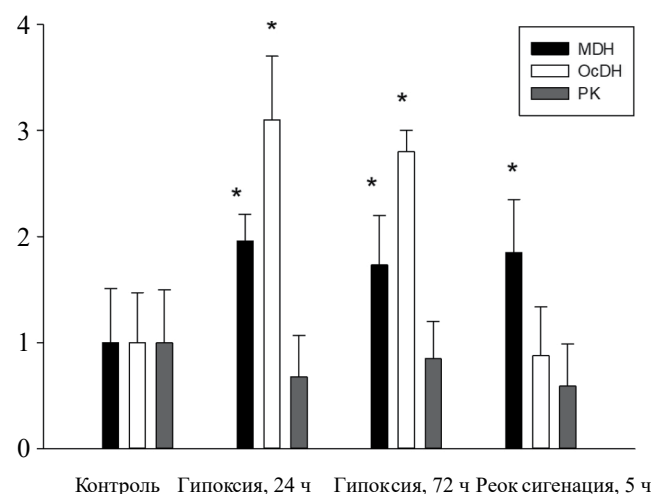


Рис. 1. Экспрессия генов *MDH*, *OcDH* и *PKM* в жабрах средиземноморской мидии в условиях гипоксии ($2.2 \text{ мг О}_2 \text{ л}^{-1}$) и после реоксигенации. Значения на оси ординат показаны изменения кратности (Fold change). * — достоверно по отношению к контролю (непараметрический критерий Манна-Уитни), $p < 0.05$.

Природа чувствительности экспрессии гена *OcDH* к содержанию кислорода в воде показана впервые. По-видимому, она определяется синтезом HIF-1 α фактора (*hypoxia inducible factor*). Близкий к млекопитающим по структуре и функциональным характеристикам белковый фактор (766 аминокислот) впервые был идентифицирован и в плазме крови форелей (*Salmo gairdneri*), содержащейся в условиях гипоксии (5% насыщения воды кислородом) (Soitamo *et al.*, 2001). Отмечено, что его продукция всегда повышалась в условиях гипоксии и у других рыб (Heise *et al.*, 2006; Ju *et al.*, 2007). Это происходило на фоне роста активности лактатдегидрогеназы (*LDH*), что отражало усиление процессов анаэробного метаболизма в тканях (Rees *et al.*, 2001). HIF-1 α был идентифицирован и у представителей рода *Mytilus* (Giannetto *et al.*, 2015). *OcDH* фактически является конкурентом *LDH* за гликолитический пируват в тканевых структурах моллюска. Его активность почти в 15 раз выше (Storey, Dando, 1982). На этом основании можно предположить, что выработка HIF-1 α регулирует экспрессию гена *OcDH*.

Другим результатом настоящей работы явилось обнаружение роста экспрессии гена *MDH*, которая,

в отличие от *OcDH*, не подавлялась в условиях реоксигенации. Показано, что ген данного фермента активно экспрессируется в тканях средиземноморской мидии (Soldatov *et al.*, 2023). Известно, что *MDH* катализирует как прямую, так и обратную реакцию превращения S-малата. Этот процесс является элементом многих метаболических путей, протекающих как в аэробных, так и анаэробных условиях (Chang, Tong, 2003). Благодаря *MDH* реализуются глюкозо-сукцинатная и аспартат-сукцинатная реакции, которые более эффективны в условиях анаэробноза, в сравнении с глюкозо-опиновым и глюкозо-лактатным направлениями метаболизма (Livingstone, 1991). Эти процессы достаточно инерционны. В этом, по-видимому, следует усматривать отсутствие прямой зависимости экспрессии гена *MDH* от содержания кислорода.

Экспрессия *PKM* в настоящих экспериментах не изменялась (рис. 1). Отмечена даже некоторая тенденция на подавление данного процесса. Известно, что в условиях внешнего дефицита кислорода активность *PKM* понижается. Это показано для морских гребешков, ряда брюхоногих моллюсков и отражает усиление анаэробных процессов в их тканевых структурах, в которых активное участие принимает *MDH* (Sokolova, Pörtner, 2001; Van Hellemond *et al.*, 2003). Эта информация согласуется с данными по экспрессии *MDH* и *PKM*, рассмотренными выше.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из представленных материалов следует, что условия острой гипоксии сопровождаются повышением уровня экспрессии генов *OcDH* и *MDH* в жабрах средиземноморской мидии при отсутствии изменений со стороны гена *PKM*. При этом экспрессия *OcDH* проявляет чувствительность к содержанию кислорода в среде. Обнаруженные изменения направлены на повышение эффективности анаэробных процессов в ткани в условиях внешнего дефицита кислорода.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Этические нормы: все процедуры с использованием моллюсков были выполнены в соответствии с Директивой Совета Европейских сообществ (2010/63/EU) и одобрены местным учреждением по уходу и использованию животных (протокол № 4/23 от 26.10.2023).

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственной программы AAAA-A18-118021490093-4.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Allcock A. L., Strugnell J. M., Prodohl P., Piatkowski U., Vecchione M. A new species of *Parleodoene* (Cephalopoda: Octopodidae) from Antarctic Peninsula Waters // Polar Biology. 2007. V. 30. P. 883–893.
- Andreyeva, A. Y., Gostyukhina, O. L., Kladchenko, E. S., Afonnikov, D. A., Rasskazov, D. A., Lantushenko, A. O., & Vodiasova, E. A. Hypoxia exerts oxidative stress and changes in expression of antioxidant enzyme genes in gills of *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) // Marine Biology Research. 2021. V. 17. Iss. 4. P. 369–379.
- Bacchiocchi S., Principato G. Mitochondrial contribution to metabolic changes in the digestive gland of *Mytilus galloprovincialis* during anaerobiosis // J. Exp. Zool. 2000. V. 286. Iss. 2. P. 107–113.
[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-010x\(20000201\)286:2<107::aid-jez1>3.0.co;2-8](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-010x(20000201)286:2<107::aid-jez1>3.0.co;2-8).
- Buck L. T. Succinate and alanine as anaerobic end-products in the diving turtle (*Chrysemys picta bellii*) // Comparative Biochemistry and Physiology Part B Biochemistry and Molecular Biology. 2000. V. 126. Iss. 3. P. 409–413.
[https://doi.org/10.1016/S0305-0491\(00\)00215-7](https://doi.org/10.1016/S0305-0491(00)00215-7)
- Chang G. G., Tong L. Structure and function of malic enzymes, a new class of oxidative decarboxylases // Biochemistry. 2003. V. 42. No. 44. P. 12721–12733.
<https://doi.org/10.1021/bi035251+>
- Chew S. F., Gan J., Ip Y. K. Nitrogen metabolism and excretion in the swamp eel, *Monopterus albus*, during 6 or 40 days of estivation in mud // Physiol. Biochem. Zool. 2005. V. 78. No 4. P. 620–629.
<https://doi.org/10.1086/430233>
- Endo N., Kan-no N., Nagahisa E. Purification, characterization, and cDNA cloning of opine dehydrogenases from the polychaete rock worm *Marphysa sanguinea* // Comp. Biochem. Physiol. B. 2007. V. 14. P. 293–307.
- Giannetto A., Maisano M., Cappello T., Oliva S., Parrino V., Natalotto A., De Marco G., Barberi C., Romeo O., Mauceri A., Fasulo S. Hypoxia-Inducible Factor α and Hif-prolyl Hydroxylase Characterization and Gene Expression in Short-Time Air-Exposed *Mytilus galloprovincialis* // Mar. Biotechnol. 2015. V. 17. Iss. 6. P. 3–16.
<https://doi.org/10.1007/s10126-015-9655-7>
- Gosling E. Ecological genetics of the mussels *Mytilus edulis* and *M. galloprovincialis* on Irish coasts // Marine Ecology Progress Series. 1981. V. 4. No 2. P. 221–227.
<https://doi.org/10.3354/meps004221>
- Heise K., Puntarulo S., Nikinmaa M., Lucassen M., Portner H. O., Abele D. Oxidative stress and HIF-1 DNA binding during stressful cold exposure and recovery in the North Sea eelpout (*Zoarces viviparus*) // Comp.

- Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol. 2006. V. 143. No 4. P. 494–503.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.01.014>.
- Hollenbeck C. M., Johnston I. A. Genomic Tools and Selective Breeding in Molluscs // Front. Genet. 2018. V. 9. P. 1–15.
<https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00253>
- Ju Z., Wells M. C., Heater S. J., Walter R. B. Multiple tissue gene expression analyses in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to hypoxia // Comp. Biochem. Physiol. C. 2007. V. 145. No 1. P. 134–144.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2006.06.012>
- Karstensen J., Stramma L., Visbeck M. Oxygen minimum zones in the eastern tropical Atlantic and Pacific Oceans // Prog. Oceanogr. 2008. V. 77. P. 331–350.
<https://doi.org/10.1016/j.pocean.2007.05.009>
- Kimura T., Nakano T., Yamaguchi T. et al. Complementary DNA Cloning and Molecular Evolution of Opine Dehydrogenases in Some Marine Invertebrates // October 2004 Marine Biotechnology. 2004. V. 6. Iss. 5. P. 493–502.
<https://doi.org/10.1007/s10126-004-2700-6>
- Le Moullac G., Bacca H., Huvet A., Moal J., Pouvreau S., Van Wormhoudt A. Transcriptional regulation of pyruvate kinase and phosphoenolpyruvate carboxykinase in the adductor muscle of the oyster *Crassostrea gigas* during prolonged hypoxia // J. Exp. Zool. A Ecol. Genet. Physiol. 2007. V. 307A. Iss. 7. P. 371–382.
<https://doi.org/10.1002/jez.390>
- Livak, K. J., Schmittgen, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻ΔΔCT method // Methods. 2001. V. 25. Iss. 4. P. 402–408.
<https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- Livingstone D. R. Origins and evolution of pathways of anaerobic metabolism in the animal kingdom // Am. Zool. 1991. V. 31. P. 522–534.
- Paulmier A., Ruiz-Pino D. Oxygen minimum zones in the modern ocean // Prog. Oceanogr. 2009. V. 80. P. 113–128.
<https://doi.org/10.1016/j.pocean.2008.08.001>
- Rabalais N. N., Cai W.-J., Carstensen J. Eutrophication-driven deoxygenation in the coastal ocean // Oceanography. 2014. V. 27. No 1. P. 172–183.
<https://doi.org/10.5670/oceanog.2014.21>.
- Rees B. B., Bowman J. A. L., Schulte P. M. Structure and sequence conservation of a putative hypoxia response element in the lactate dehydrogenase-B gene of *Fundulus* // Biol. Bull. 2001. V. 200. P. 247–251.
<https://doi.org/10.2307/1543505>
- Soitamo A. J., Raabergh C. M. I., Gassmann M., Sistonen L., Nikinmaa M. Characterization of a Hypoxia-inducible Factor (HIF-1) from Rainbow Trout: Accumulation of protein occurs at normal venous oxygen tension // J. Biol. Chem. 2001. V. 276. No 23. P. 19699–19705.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M009057200>.
- Sokolova I. M., Pörtner H. O. Temperature effects on key metabolic enzymes in *Littorina saxatilis* and *L. obtusata* from different latitudes and shore levels // Mar. Biol. 2001. V. 139. P. 113–126.
- Soldatov A. A., Andreenko T. I., Golovina I. V., Stolbov A. Y. Peculiarities of organization of tissue metabolism in molluscs with different tolerance to external hypoxia // J. Evol. Biochem. Physiol. 2010. V. 46. No 4. P. 341–349.
<https://doi.org/10.1134/S0022093010040022>
- Soldatov A. A., Andreenko T. I., Sysoeva I. V., Sysoev A. A. Tissue specificity of metabolism in the bivalve mollusc *Anadara inaequalis* Br. under conditions of experimental anoxia // J. Evol. Biochem. Physiol. 2009. V. 45. No 3. P. 349–355.
<https://doi.org/10.1134/S002209300903003X>
- Soldatov A. A., Golovina I. V., Lantushenko A. O., Kokhan A. S., Sysoeva I. V., Sysoev A. A., Kolesnikova E. E. Adenylate System State, Malate Dehydrogenase Activity and Expression Level in Tissues of *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 // Thalassas: An International Journal of Marine Sciences. 2023. V. 39. P. 739–747.
<https://doi.org/10.1007/s41208-023-00563-4>
- Soldatov A. A., Gostyukhina O. L., Golovina I. V. Functional states of antioxidant enzymatic complex of tissues of *Mytilus galloprovincialis* Lam. under conditions of oxidative stress // J. Evol. Biochem. Physiol. 2014. V. 50. Iss. 3. P. 206–214.
<https://doi.org/10.1134/S0022093014030028>
- Storey K. B., Dando P. R. Substrate specificities of octopine dehydrogenases from marine invertebrates // Comp. Biochem. Physiol. B Comp. Biochem. 1982. V. 73. P. 521–528.
[https://doi.org/10.1016/0305-0491\(82\)90069-4](https://doi.org/10.1016/0305-0491(82)90069-4)
- Storey K. B., Storey J. M. Metabolic rate depression in animals: transcriptional and translational controls // Biol. Rev. 2004. V. 79. P. 207–233.
<https://doi.org/10.1017/s1464793103006195>
- St-Pierre J., Tattersall G. J., Boutilier R. G. Metabolic depression and enhanced O₂ affinity of mitochondria in hypoxic hypometabolism // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2000. V. 279. Iss. 4. P. R1205–R1214.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.2000.279.4.R1205>
- Strugnell J. M., Collins M. A., Allcock A. L. Molecular evolutionary relationships of the octopodid genus *Thaumeledone* (Cephalopoda: Octopodidae) from the Southern Ocean // Antarctic Science. 2008. V. 20. P. 245–251.
- Van Hellemond J. J., Van der Klei A., Van Weelden S. W. H. Tielens A. G. M. Biochemical and evolutionary aspects of anaerobically functioning mitochondria // Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 2003. V. 358. P. 205–215.
<https://doi.org/10.1098/rstb.2002.1182>
- Vázquez-Dorado S., Sanjuan A., Comesaña A. S., Carlos A. Identification of octopine dehydrogenase from *Mytilus galloprovincialis* // Comparative Biochemistry and Physiology Part B. 2011. V. 160. P. 94–103.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2011.07.003>

- Vázquez-Dorado S., De Carlos A., Comesaña A. S., Andrés Sanjuán A. Phylogenetic comparison of opine dehydrogenase sequences from marine invertebrates // Biochem. Genet. 2013. V. 51. Iss. 1–2. P. 154–65. DOI: 10.1007/s10528-012-9551-z
- Zammit V.A. Possible relationship between energy metabolism of muscle and oxygen binding characteristics of haemocyanin of cephalopods // J. Mar. Biol. Assoc. UK. 1978. V. 58. P. 421–424. DOI: 10.1017/S0025315400028083

Expression of pyruvate kinase, malate and octopine dehydrogenase genes in the gills of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) under conditions of hypoxia and reoxygenation

© 2024 A. O. Lantushenko*, A. S. Kohan**, A. A. Soldatov*, **, @,
I. V. Degtyar*, A. Yu. Andreeva**

*Sevastopol State University, Universitetskaya str. 33, Sevastopol 299053 Russia

**Federal Research Center “A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the South Seas of the Russian Academy of Sciences”,
Nakhimov Avenue, Sevastopol, 2299011 Russia

*E-mail: alekssoldatov@yandex.ru

The effect of hypoxia on the expression level of pyruvate kinase (*PKM*), octopine dehydrogenase (*OcDH*) and malate dehydrogenase (*MDH*) genes in the gill tissue of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* (L., 1819) was studied experimentally. The control group of mollusks was kept at 9–10°C and the oxygen level in the water was 8.5 mgO₂ l⁻¹. Experimental — at 9–10°C and 2.2 mgO₂ l⁻¹. The exposure was 24 and 72 hours. Some of the individuals were subsequently subjected to the reoxygenation procedure. Under conditions of hypoxia, the expression level of *OcDH* and *MDH* genes increased by 3 and 2 times, respectively ($p < 0.05$). At the same time, *OcDH* expression showed sensitivity to the oxygen content in the medium. Under the conditions of reoxygenation, the process was completely suppressed. The expression of the *PKM* gene, on the contrary, did not depend on hypoxic effects and remained at the level of control values.

Keywords: *Mytilus galloprovincialis*, hypoxia, gene expression, gills, malate dehydrogenase, octopine dehydrogenase, pyruvate kinase