Секция «Генетика»

Рекомбинантный апо-лактоферрин человека изменяет уровень полногеномного метилирования ДНК в культуре клеток нейробластомы IMR32

Научный руководитель – Сучкова Ирина Олеговна

Шарруф Кинда

Студент (магистр)

Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: kinda996@yahoo.com

В последнее время большое внимания уделяется исследованию эпигенетических механизмов модуляции экспрессии генов в норме и при патологиях. Продолжает оставаться актуальным поиск эндогенных и экзогенных факторов влияющих на эпигеном эукариот. В настоящее время мало публикаций, посвященных исследованию влияния лактоферрина (ЛФ) на эпигеномный статус клеток млекопитающих. ЛФ отвечает за связывание и транспорт ионов железа, и обладает иммуномодулирующим действиями [1]. ЛФ, связываясь с ДНК, может выступать как транскрипционный фактор и регулировать экспрессию неких генов [2]. В связи с этим цель данной работы заключалась в исследовании влияния различных доз экзогенного лактоферрина на уровень полногеномного метилирования ДНК в клетках нейробластомы человека линии IMR32.

IMR32 культивировали в течение 24 ч. до достижения клетками 25-30% конфлюентности. В опытные образцы добавляли рекомбинантный апо-ЛФ человека (rec apo-LF hum) с различными концентрациями (0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, 100, 500 мкг/мл) и культивировали еще в течение 72 ч. В контрольные образцы добавляли 0.9% NaCl в объемах аналогичных rec apo-LF hum. Геномную ДНК экстрагировали неферментативным методом высаливания. После ферментативного гидролиза ДНК эндонуклеазами рестрикции MspI и HpaII проводили электрофорез в 1% агарозном геле. Далее проводили количественный анализ полученных изображений гелей в программе ImageJ для определения относительного уровня метилирования геномной ДНК. В качестве стандартных образцов с известным уровнем полногеномного метилирования ДНК были использованы образцы коммерческой неметилированной и метилированной ДНК человека (серия разведений: 0%, 12.5%, 25%, 50%, 62.5%, 75%, 87.5%, 100%). Статистическую обработку данных проводили с помощью непараметрических критериев Крускала-Уоллиса и Данна для попарного сравнения. Статистически значимыми принимали значения при $p < 0.05$.

Обнаружено, что 72 часовое воздействие rec apo-LF hum приводило к повышению уровня полногеномного метилирования ДНК по сравнению с контролем ($p < 0.001$). Полученные результаты указывают на то, что лактоферрин может принимать участие в регуляции экспрессии генов не только как транскрипционный фактор, связываясь с ДНК, но и, по-видимому, способен модулировать активность генов через эпигенетические механизмы, в частности изменяя степень/паттерн метилирования ДНК.

Источники и литература

1) Baynes R. D., Bezwoda W. R. Lactoferrin and the inflammatory response // Adv. Exp.Med. Biol. 1994, № 357. p. 133–141.

2) Mariller C., et al. Delta-lactoferrin, an intracellular lactoferrin isoform that acts as a transcription factor // Biochem Cell Biol. 2012. № 90(3). p. 307–319.