

Изменение структуры нуклеосом и хроматосом под действием EGCG

Научный руководитель – Феофанов Алексей Валерьевич

Андреева Т.В.¹, Ефременко А.В.², Афонин Д.А.³

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биоинженерии, Москва, Россия, *E-mail*: andreeva.tatyana.2014@post.bio.msu.ru; 2 - Московская государственная академия тонкой химической технологии, Москва, Россия, *E-mail*: aefr@mail.ru; 3 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биоинженерии, Москва, Россия, *E-mail*: afonin.dmitry.2015@post.bio.msu.ru

Относящийся к группе катехинов полифенол EGCG способен связываться с двунитевой и одонитевой ДНК *in vitro* [2] и модулировать экспрессию генов *in vivo* [1]. В данной работе мы исследовали способность EGCG проникать в ядро клетки и взаимодействовать там с ДНК, а также изучили воздействие EGCG на структуру нуклеосом и хроматосом *in vitro*.

Нуклеосомы для исследований были сформированы на основе октамера гистонов человека и флуоресцентно меченой ДНК-матрицы, содержащей нуклеосом-позиционирующую последовательность. Для образования хроматосом использовали линкерный гистон H1.0 *Xenopus laevis* или H1.5 человека. Для изучения структурных перестроек в нуклеосомах и хроматосомах применяли метод флуоресцентной микроскопии одиночных частиц на основе эффекта FRET. Клеточные исследования проводили на клетках НЕК293, ядра которых были окрашены красителем Hoechst 33342. Клетки изучали с помощью флуоресцентной микроскопии.

Было обнаружено, что EGCG связывается с ДНК в ядре живых клеток, вытесняя оттуда Hoechst 33342. Было показано, что EGCG в диапазоне концентраций 0,4 – 6 мкМ (где 6 мкМ – концентрация насыщения связывания) вызывает обратимые изменения структуры нуклеосом, сопровождающиеся отворачиванием 40 – 60 п. н. ДНК от октамера гистонов при насыщении связывания EGCG.

У хроматосом и на основе H1.0, и на основе H1.5 EGCG противодействует сближению нуклеосомных линкеров под влиянием линкерных гистонов. Однако, при этом EGCG не вызывает диссоциации линкерных гистонов.

Показанная нами способность EGCG связываться с ДНК в ядре живых клеток и вызывать изменения структуры хроматосом и нуклеосом может быть частью механизма модуляции экспрессии генов под действием EGCG, а обратимость структурных изменений, возможно, объясняет отсутствие генотоксичности у данного полифенола.

Автор выражает благодарность своему научному руководителю доктору биологических наук, профессору Феофанову Алексею Валерьевичу.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 21-74-20018.

Источники и литература

- 1) Kim H.S., Quon M.J., Kim J. a. New Insights into the Mechanisms of Polyphenols beyond Antioxidant Properties; Lessons from the Green Tea Polyphenol, Epigallocatechin 3-Gallate // Redox Biol. 2014. №2. P. 187–195.
- 2) Kuzuhara T., Sei, Y., Yamaguchi K., Suganuma M., Fujiki H. DNA and RNA as New Binding Targets of Green Tea Catechins // J. Biol. Chem. 2006. №281. P. 17446–17456.