

Влияние изменений состава ядерной ламины на прогрессию клеточного цикла

Научный руководитель – Овсянникова Наталья Леонидовна

Хайруллина Рената Айратовна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия

E-mail: ikhayrullina21@gmail.com

Введение. Основная функция ядерной ламины — защита генетического материала от механического стресса, поддержание стабильности генома и предотвращение мутаций, связанных с раком и другими заболеваниями. Белки ядерной оболочки, включая ламин А, участвуют в репарации ДНК [3]. Мутации в гене LMNA, кодирующем ламин А, приводят к синтезу прогерина и ассоциированы с прогерией Хатчинсона-Гилфорда (синдрома ускоренного старения). Известно, что ZMPSTE24 – метал-зависимая протеиназа критически важна для процессирования ламина А, однако, при мутации в LMNA ZMPSTE24 более не способен взаимодействовать с преламином А, что способствует его накоплению. Интересно, что экспрессия прогерина наблюдается и у стареющих здоровых людей [1]. Данная работа представляет собой анализ влияния изменений состава ядерной ламины на прогрессию клеточного цикла.

Методы. Эксперименты проводили на клеточной линии фибросаркомы человек HT1080. Для поиска условий свободного деления клеток культивировали с концентрациями 25, 50 и 100 тыс.кл/мл. Имитацию прогероидного синдрома проводили двумя путями: с использованием фозиноприла и трансфекцией плазмидой, кодирующей ген прогерина, конъюгированный с красным флуоресцентным белком. Морфологию ядерной ламины при действии фозиноприла детектировали с помощью иммунофлуоресцентного окрашивания антителами против ламина А/С. Анализ изображений, полученных с инвертированного флуоресцентного микроскопа с функцией высокопроизводительного скрининга Nikon Ti2, проводился в программе Pastik.

Результаты. Установлено, что концентрация 25000 кл/мл соответствует условиям свободного деления для клеток HT1080 – при повышении концентрации клеток митотический индекс снижается. В подобранных условиях было обнаружено, что в присутствии фозиноприла увеличивается пул клеток, находящихся в митозе. Также наблюдается накопление ламина А/С по периферии митотической пластинки, что говорит о нарушении разборки ядерной ламины.

Выводы. Наличие мутантного ламина А может индуцировать нарушение прогрессии клеточного цикла. Мы показали, что при действии фозиноприла происходит остановка клеточного цикла в метафазе. Это вызвано нарушением разборки ядерной ламины и остаточной ассоциацией ее с ядерной мембраной [2]. Данная остановка может приводить к хромосомным aberrациям и индуцировать клеточное старение. В настоящее время продолжаются работы по исследованию влияния фозиноприла на другие фазы клеточного цикла. Поскольку остановка в метафазе также может быть вызвана наличием неправильно репарированных разрывов, в результате действия прогерина на репликативную вилку или репарационную машинерию.

Источники и литература

- 1) Ashapkin, V. V., Kutueva, L. I., Kurchashova, S. Y., & Kireev, I. I. Are There Common Mechanisms Between the Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome and Natural Aging? // Frontiers in genetics. 2019. 10, 455.
- 2) K. Cao, B.C. Capell, M.R. Erdos, K. Djabali, & F.S. Collins. A lamin A protein isoform overexpressed in Hutchinson–Gilford progeria syndrome interferes with mitosis in progeria and normal cells // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2007. 104 (12) 4949-4954.
- 3) Moudry P, Lukas C, Macurek L, Neumann B, Heriche JK, Pepperkok R, Ellenberg J, Hodny Z, Lukas J, Bartek J. Nucleoporin NUP153 guards genome integrity by promoting nuclear import of 53BP1 // Cell death and differentiation. 2012. 19(5):798-807.