

Активация транскрипции ДНК перицентромерных сателлитов 2 и 3 в различных клеточных линиях в ответ на гипертермию

Научный руководитель – Енукашвили Натэлла Иосифовна

Острова Мария Михайловна

Студент (бакалавр)

Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Факультет биологии, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: mariyaostrova2@gmail.com

Сателлитная ДНК представляет собой tandemные повторы нуклеотидных последовательностей, преимущественно локализованных в центромерных и прицентромерных районах хромосом, являясь частью конститутивного гетерохроматина.

У человека в прицентромерных районах хромосом наиболее распространены ДНК сателлитов 2 и 3 (HSAT2, HSAT3), на долю которых приходится порядка 2% от генома. Ранее конститутивный гетерохроматин считался транскрипционно неактивным, однако исследования показали, что прицентромерная ДНК HSAT2 и HSAT3 может транскрибироваться. Наиболее сильным индуктором ее транскрипции является тепловой стресс [2].

Активация транскрипции HSAT2 и HSAT3 описана в клеточных линиях, полученных из опухолей эпителиального происхождения при температурах 42-43 °C [2,3]. Транскрипты HSAT3 в этих клетках участвуют в формировании рибонуклеопротеидных компартментов, известных как ядерные стрессовые тельца, которые играют важную роль в защите клетки и регуляции экспрессии генов, связанных со стрессовым ответом [1,2].

Цель исследования: определение особенностей стресс-индуцированной активации транскрипции HSAT2 и HSAT3 в ответ на гипертермию в клеточных линиях разного происхождения: эпителиальной опухоли - аденокарциномы легкого A549, линии моноцитарной лейкемии THP-1 и лимфоцитарной линии 1301 от пациента с Т-клеточным лейкозом. Клетки подвергали гипертермии в течение 1 ч при температурах: 40 °C, 43 °C или 46 °C, контрольные клетки культивировали при температуре 37 °C. Далее выделяли РНК и с помощью праймеров, специфичных к HSAT2 и HSAT3, проводили обратную транскрипцию. Затем с помощью кПЦР исследовали уровень транскриптов HSAT2 и HSAT3 в клетках. Полученные ПЦР-продукты реамплифицировали и клонировали, после чего секвенировали. Анализ последовательностей в BLAST подтвердил их принадлежность к HSAT2 и HSAT3, что свидетельствует о корректности амплификации. Анализ результатов кПЦР показал, что температура активации транскрипции HSAT2 и HSAT3 варьировала в зависимости от клеточной линии. В клетках A549 пик транскрипции наблюдался при 43 °C, тогда как в THP-1 и 1301 — уже при 40 °C. В клетках THP-1 при 43 °C повышалась экспрессия сатДНК 2, а не 3.

Таким образом, активация транскрипции HSAT2 и HSAT3 при гипертермии зависит от типа клеточной линии и температуры воздействия, что указывает на возможные различия в механизмах терморегуляции транскрипции между линиями клеток.

Работа выполнена в рамках государственного задания АААА-А19-119020190091-5.

Источники и литература

- 1) Biamonti, G., & Vourc'h, C. (2010). Nuclear stress bodies. In Cold Spring Harbor perspectives in biology (Vol. 2, Issue 6).
- 2) Jolly, C. et al (2004). Stress-induced transcription of satellite III repeats. Journal of Cell Biology, 164(1), 25–33.