

Влияние поли(PR)-пептида на компартиментализацию клеточного ядра

Научный руководитель – Кантидзе Омар Леванович

Минина Елизавета Петровна

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: lisa.minina@gmail.com

Наиболее частой причиной развития таких нейродегенеративных заболеваний, как фронтотемпоральная деменция и боковой амиотрофический склероз, является увеличение числа повторов GGGGCC в гене *C9orf72*, в результате чего в белковом продукте этого гена увеличивается количество повторов пролин-аргинин (PR). Недавно на генетически-модифицированных мышах, экспрессирующих зелёный флуоресцентный белок (GFP), сшитый с фрагментом из пятидесяти PR-повторов, было показано, что накопление в нейронах поли(PR)-пептида приводило к нарушениям в организации гетерохроматина, а также к накоплению в них двуцепочечных РНК [1].

С целью детального изучения причин токсичности поли(PR)-пептида на клеточном уровне на основе вектора pTagGFP-C2 была создана плаزمид, кодирующая GFP с дополнительными 50 PR-повторами (далее - поли(PR)-пептид). Полученная плазмид была использована для временной экспрессии поли(PR)-пептида в клетках HeLa и фибробластах человека. С помощью флуоресцентной микроскопии было показано, что поли(PR)-пептид демонстрирует преимущественно ядрышковую локализацию, хотя небольшое его количество выявляется в нуклеоплазме. При помощи методов иммуноцитохимии было изучено влияние поли(PR)-пептида на компартиментализацию клеточного ядра в клетках HeLa. Окрашивание антителами к коилину, маркерному белку телец Кахаля, показало, что поли(PR)-пептид не вызывает существенных изменений в этих компартаментах. Окрашивание антителами к ядрышковым белкам нуклеофозмину, также известному как B23, и нуклеолину продемонстрировало, что в условиях гиперэкспрессии поли(PR)-пептида эти ядрышковые белки перестают покидать ядрышко в ответ на воздействие камптотецина, в нормальных условиях вызывающего выход B23 и нуклеолина в нуклеоплазму. С помощью окрашивания антителами к HP1, маркерному белку гетерохроматина, было установлено, что в условиях гиперэкспрессии поли(PR)-пептида гетерохроматин претерпевает некоторые изменения. С целью выяснения детальной картины изменений в структуре хроматина под действием поли(PR)-пептида планируется изучить структуру хроматина с помощью метода Hi-C в клетках HeLa с временной экспрессией поли(PR)-пептида. Кроме того, планируется создание стабильной клеточной линии, экспрессирующей поли(PR)-пептид, на основе клеток линии HeLa с целью исследования эффектов долговременной гиперэкспрессии поли(PR)-пептида.

Источники и литература

- 1) Zhang, Yong-Jie et al. Heterochromatin anomalies and double-stranded RNA accumulation underlie C9orf72 poly(PR) toxicity // Science. 2019, №6428(363). p. eaav2606