

Исследование экспрессии генов НОХА10 и НОХА11 в стромальных клетках эндометрия человека в модели гипоксии in vitro

Научный руководитель – Кулебякина Мария Александровна

Смирнова Анастасия Сергеевна

Студент (магистр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия

E-mail: anast_smir@mail.ru

Эндометрий - хорошо васкуляризованная ткань, многократно обновляющаяся на протяжении жизни. Согласно современным представлениям, столь высокая регенеративная способность эндометрия обусловлена наличием в нём большого количества стромальных клеток (СК), эффективно координирующих клеточные процессы заживления эндометрия. Характерной особенностью СК эндометрия человека является высокий базальный уровень экспрессии генов НОХА10 и НОХА11. Экспрессия данных генов, предположительно, необходима для эффективного заживления ряда тканей и органов после повреждения. Механизмы поддержания экспрессии генов НОХА10 и НОХА11 и их индукции в ответ на стимулы, возникающие при повреждении (например, гипоксию) на сегодняшний день не установлены. Согласно данным литературы, промотеры генов НОХА10 и НОХА11 подвержены процессам метилирования и деметилирования. В связи с этим мы выдвинули предположение, что в регуляции генов НОХА10 и НОХА11 принимает участие система активного деметилирования ДНК, ключевыми ферментами которой являются белки семейства ТЕТ (Ten-Eleven-Translocation).

Цель работы: выяснить роль ферментативной активности белков ТЕТ в поддержании и в индукции экспрессии генов НОХА10 и НОХА11 в стромальных клетках (СК) эндометрия человека.

В работе использовали первичные культуры СК эндометрия человека, выделенные из менструальной крови молодых здоровых женщин. Для оценки влияния активности ферментов семейства ТЕТ на экспрессию генов НОХА10 и НОХА11 к СК эндометрия добавляли селективный ингибитор ТЕТ (Bobcat339 (Sigma-Aldrich, США)) в конечной концентрации 80 мкМ. Гипоксические условия моделировали in vitro путем добавления к клеточным культурам СоС12 до конечной концентрации 200мкМ. После добавления СоС12 и/или ингибитора ферментов ТЕТ клетки инкубировали в СО2-инкубаторе в течение 12, 16, 20 либо 24ч. Экспрессию генов НОХА10 и НОХА11 в СК эндометрия оценивали методами ОТ-ПЦР и вестерн-блоттинга.

Нами было установлено, что при ингибировании ферментов ТЕТ через 24ч происходит возрастание содержания белка НОХА11 и незначительное уменьшение белка НОХА10 в СК эндометрия. При добавлении СоС12 повышается экспрессия НОХА11 как на уровне транскрипта, так и на уровне белкового продукта, при этом ингибирование ферментов ТЕТ препятствует возрастанию экспрессии НОХА11 в модели гипоксии in vitro.

Таким образом, мы впервые показали, что активность ферментов семейства ТЕТ важна для поддержания базального уровня экспрессии генов НОХА10 и НОХА11, а также для возрастания экспрессии НОХА11 в модели гипоксии in vitro. Полученные результаты позволяют предполагать, что ферменты семейства ТЕТ являются важным звеном НОХА11-зависимых механизмов регенерации эндометрия.