

Анализ ДНК-метилирования генов PTPRD, CLNKB, SLC12A7 в клеточных линиях фибробластов монозиготных близнецов, дискордантных по Болезни Паркинсона

Научный руководитель – Шадрина Мария Игоревна

Калганова Надежда Алишеровна

Студент (бакалавр)

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

E-mail: na.a.kalganova@gmail.com

Болезнь Паркинсона (БП) является многофакторным гетерогенным нейродегенеративным заболеванием. БП характеризуется преимущественной дегенерацией дофаминергических (ДА-) нейронов компактной части черной субстанции среднего мозга [1]. Одним из перспективных направлений исследований являются исследования эпигенетических факторов, которые также играют роль в патогенезе БП [2].

Один из подходов к изучению влияния эпигенетики на развитие БП является анализ монозиготных близнецов, дискордантных по БП. Ранее в лаборатории были получены клеточные линии фибробластов кожи от 3-х пар монозиготных близнецов, дискордантных по БП, и был проведен полнотранскриптомный анализ. В результате был получен набор генов с значимо различающимся (\geq в 1,5 раза) уровнем экспрессии («Дифференциально экспрессирующиеся гены» — ДЭГи). С помощью базы данных ENCODE среди ДЭГов были выбраны потенциальные дифференциально-метилированные гены, в том числе: PTPRD (кодирует рецептор тирозин-фосфатазы, функция - пре- и постсинаптическая дифференцировка нейронов [3]; экспрессия у близнецов с БП повышается), CLNKB (кодирует хлоридный канал, функция - стабилизация мембранного потенциала [3]; экспрессия у близнецов с БП повышается) и SLC12A7 (кодирует транспортер растворенных веществ, функция - стабилизация мембранного потенциала [3]; экспрессия у близнецов с БП понижается). Целью данного исследования являлся анализ уровня метилирования CpG-островков данных генов.

Были применены следующие методы: экстракция ДНК из культур фибробластов (TRIzol Reagent (Invitrogen, США)); бисульфитная конверсия ДНК (Zymo Research EZ DNA Methylation Lightning Kit (Zymo Research, США)); semi-nested PCR с нечувствительными к метилированию системами праймеров; очистка ПЦР-продуктов из геля (CleanUp Standart Kit (Евроген, Россия)), секвенирование по Сэнгеру и анализ флюорограмм (SnapGene (GLC Biotech LLC, США), MS Excel 2016 (Microsoft, США)). В результате было показано, что у CpG-островке гена PTPRD у близнеца с БП наблюдается гипометилирование, для остальных генов дифференциального метилирования не обнаружено, но необходимы дальнейшие исследования, в том числе проведение повторных экспериментов.

Источники и литература

- 1) Lesage, S. and A. Brice, Parkinson's disease: from monogenic forms to genetic susceptibility factors. Hum Mol Genet, 2009. 18(R1): p. R48-59.
- 2) Singleton, A.B., M.J. Farrer, and V. Bonifati, The genetics of Parkinson's disease: progress and therapeutic implications. Mov Disord, 2013. 28(1): p. 14-23.
- 3) UniProt: a worldwide hub of protein knowledge, Nucleic Acids Res. 47: D506-515 (2019)