



Изучение локализации ламинов в клеточном цикле в клетках млекопитающих, экзогенно экспрессирующих прогерин человека

- Выполнила ученица 10 класса: Асташкина Ульяна Олеговна
- Научный руководитель:
- Курчашова Светлана Юрьевна, научный сотрудник Научно-исследовательского института Физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского, кандидат биологических наук

Влияние прогерина на жизнь клетки

Прогерин – мутантная форма белка ламина-А

Последствия наличия прогерина в клетках:

- Нарушение репарации ДНК
- Нарушение транскрипции
- Изменения ядерной оболочки

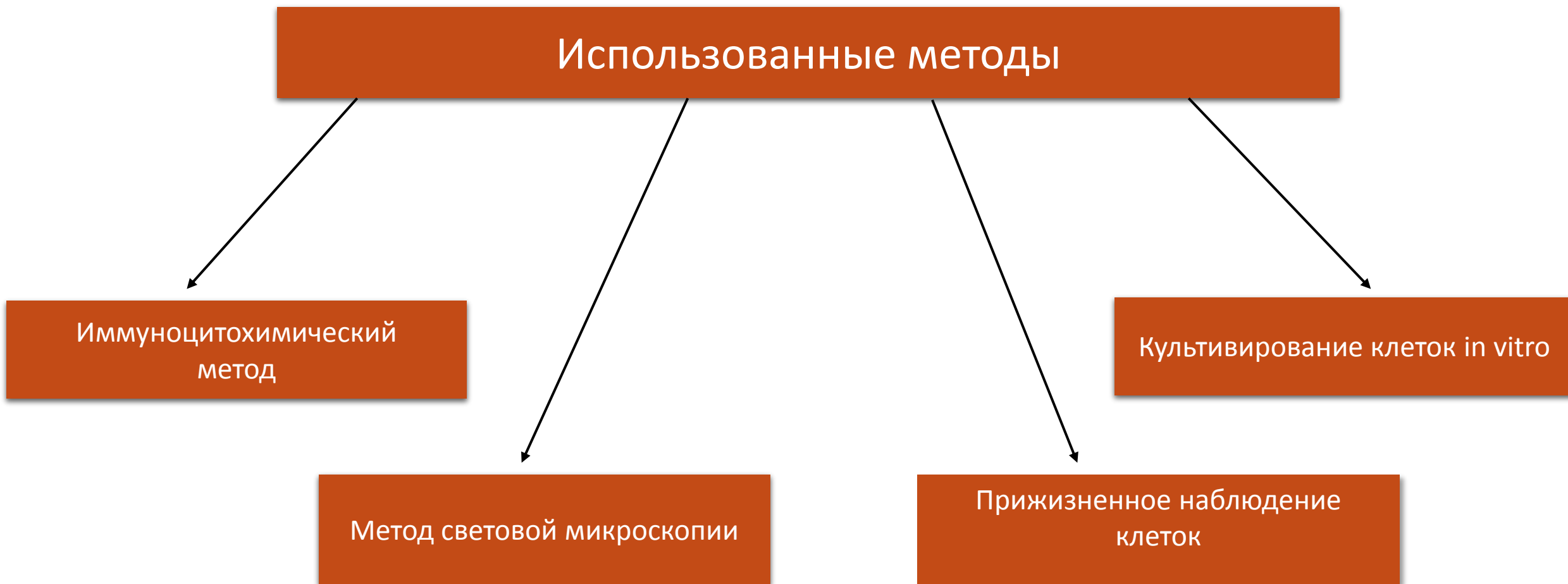
Цель и задачи работы

Цель работы: изучение локализации ламинов в клетках, экзогенно экспрессирующих прогерин человека

Задачи:

- Изучить локализацию ламинов в здоровых клетках
- Изучить локализацию ламинов в клетках, экзогенно экспрессирующих прогерин человека
- Сравнить показатели

Материалы и методы



Модельная система – клетки культуры СПЭВ

Методика эксперимента

Фиксация клеток



Пермеабилзация клеток



Блокирование неспецифических сайтов связывания

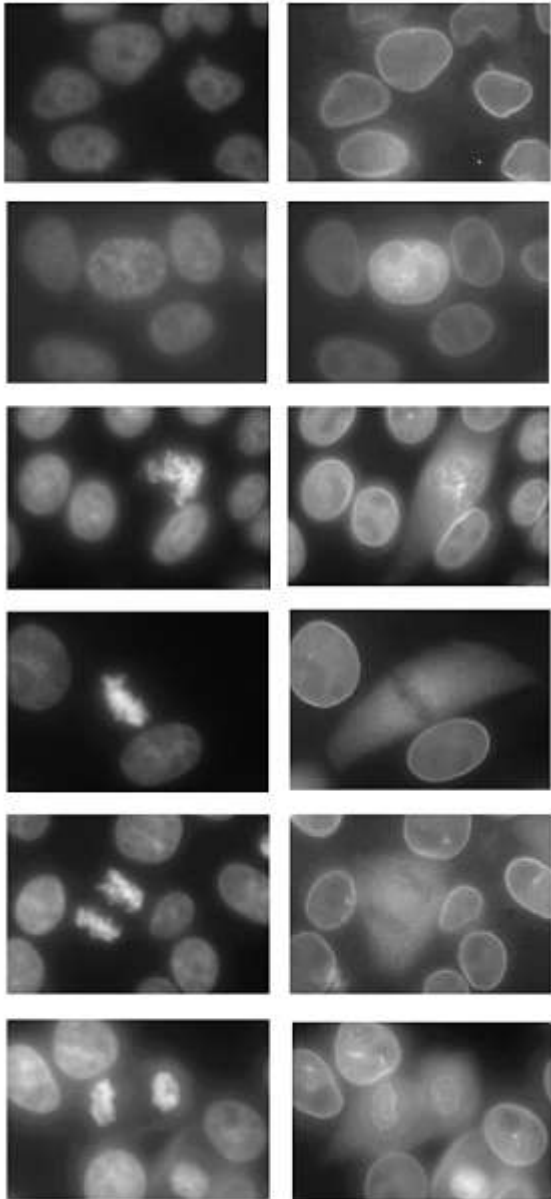


Инкубация с антителами к ламинам

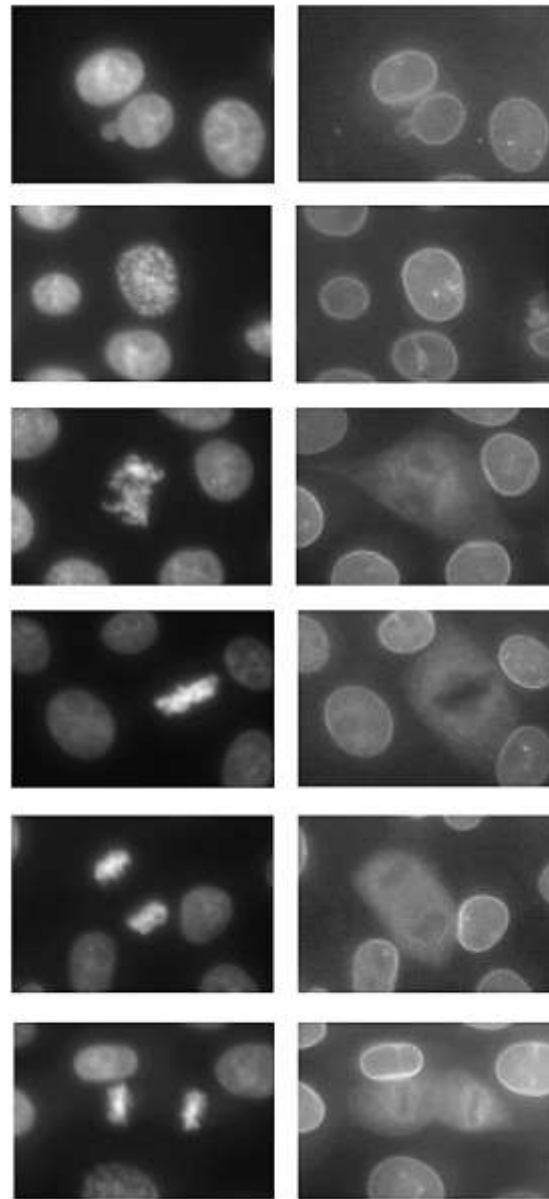


Инкубация с антителами к первым антителам

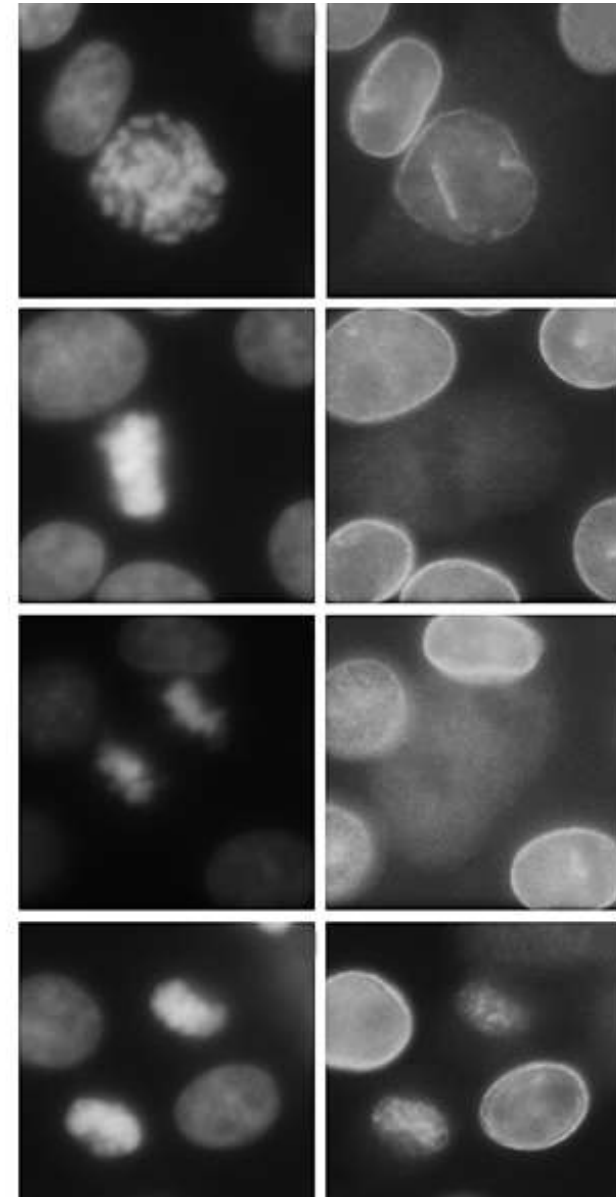
Результаты



Ламин
А

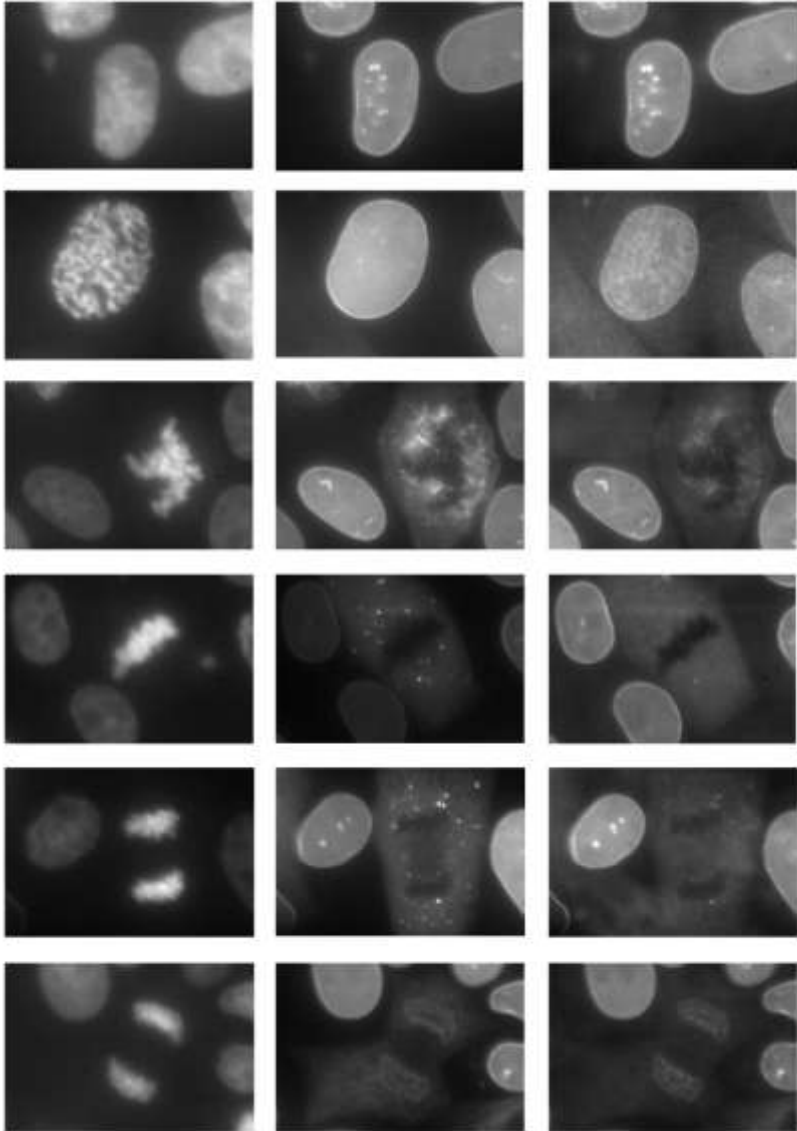


Ламин
В1

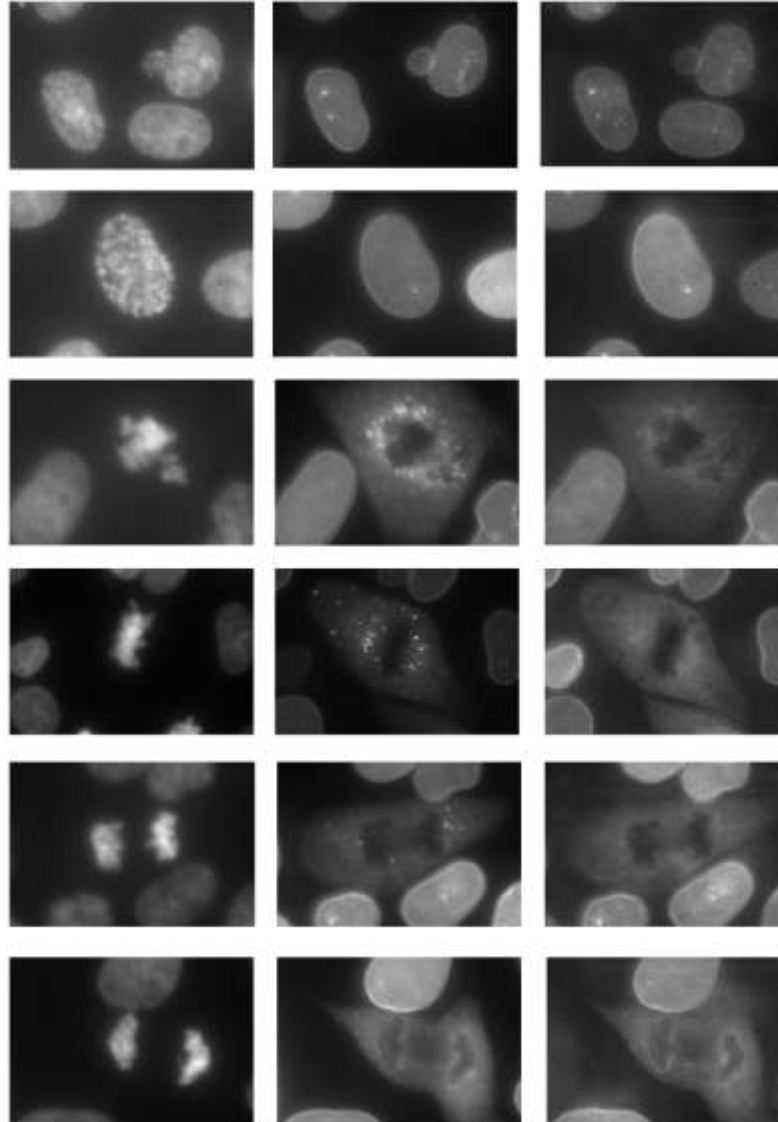


Ламин
С

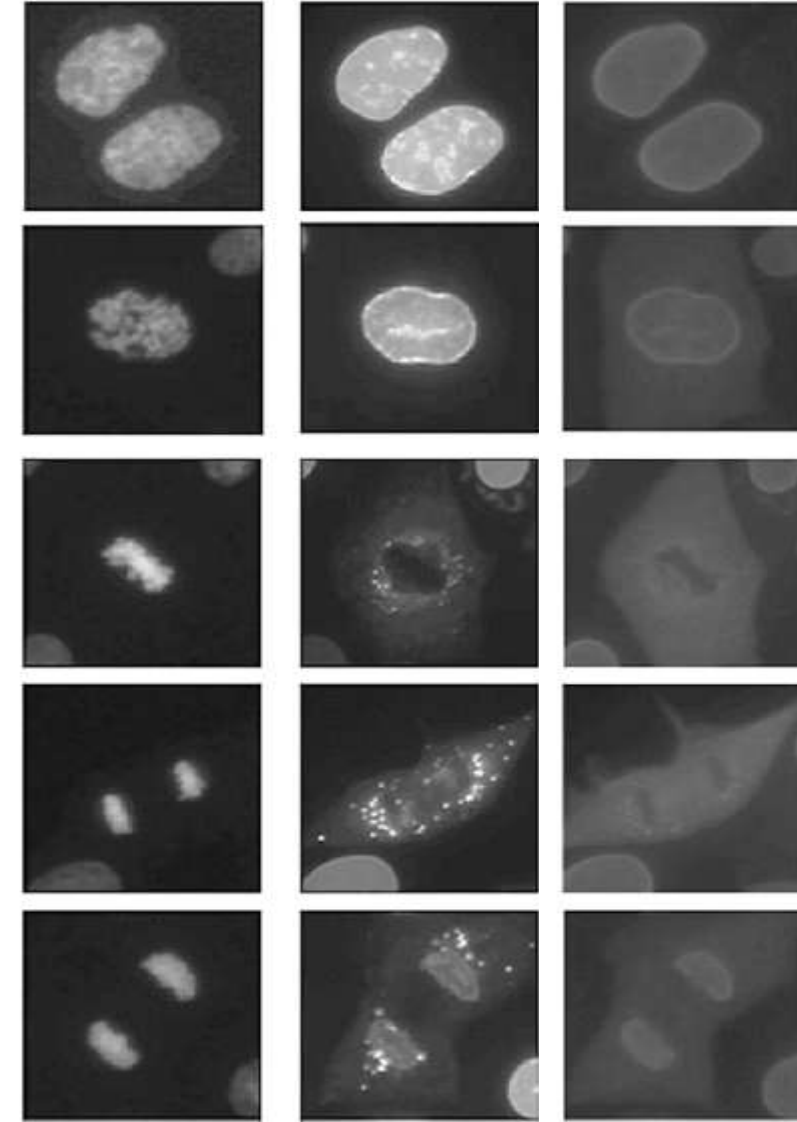
Результаты



Ламин А и прогерин

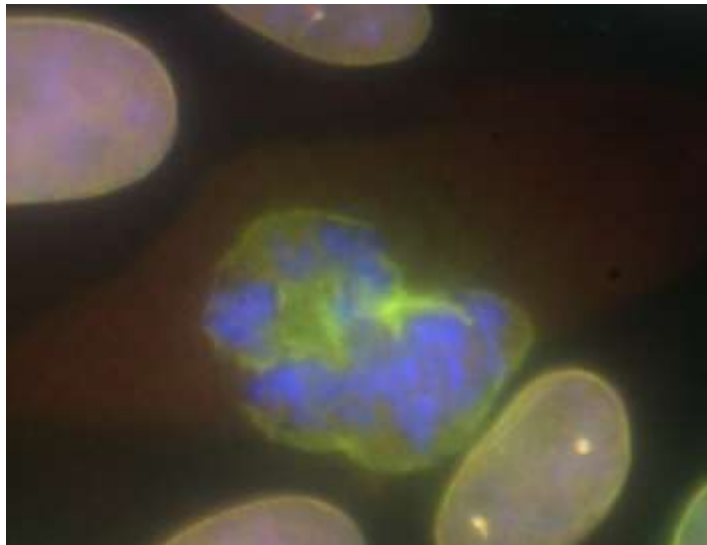


Ламин В1 и прогерин

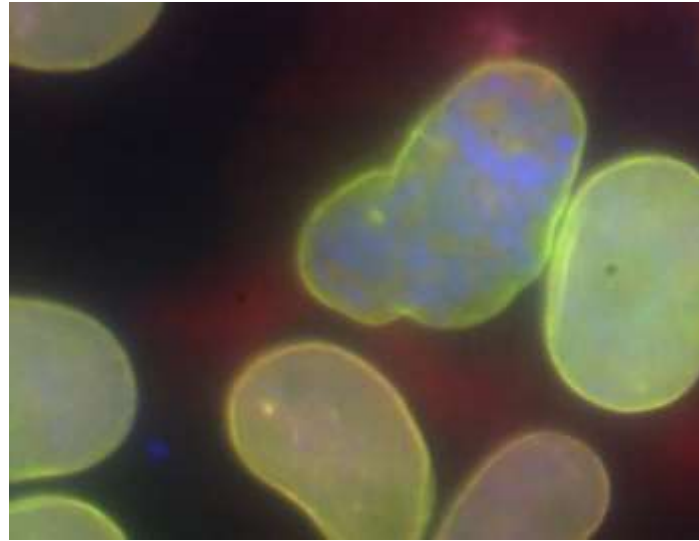


Ламин С и прогерин

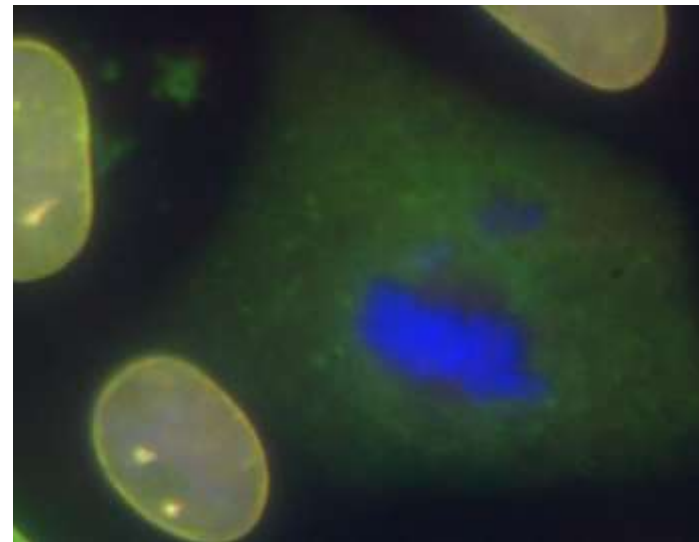
Результаты



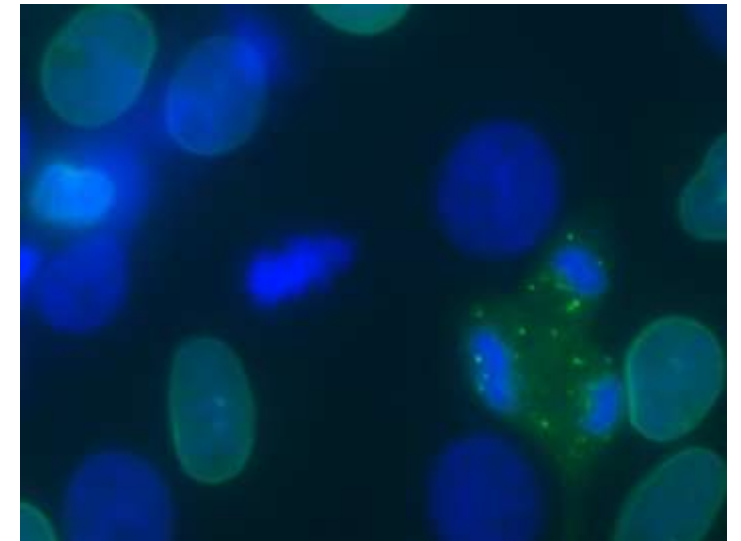
Клетка с атипичной формой
ядерной оболочки,
разобранной лишь частично



Атипичная профаза



Атипичная метафаза



Трехполюсный митоз

Выводы

- В интерфазных клетках СПЭВ ламины А, В1 и С располагались преимущественно на периферии ядра. В профазе ламины выявлялись в составе ядерной оболочки. Далее во время митоза ламины выявлялись вне связи с хромосомами. К концу телофазы ламины выявлялись на периферии вновь формирующихся ядер
- В клетках, экспрессирующих прогерин, в составе ядерной оболочки локализация прогерина в интерфазных ядрах и профазе повторяла локализацию ламин. При разборке ядерной оболочки отсоединение ламин С происходило быстрее, чем отсоединение прогерина. Во время прометафазы ламины и прогерин распределялись по цитоплазме. В метафазе и анафазе ламины А, В1, С и прогерин выявлялись в цитоплазме, вне связи с хромосомами. При этом прогерин также располагался в цитоплазматических гранулах, в некоторых случаях в этих гранулах также обнаруживались и ламины. К концу телофазы ламины А, В1, С и прогерин выявлялись на периферии вновь формирующихся ядер, причем на единичных клетках было обнаружено, что связывание прогерина для данных клеток опережает связывание с ламин С, ламин В1 и прогерин также выявлялись в составе цитоплазматических гранул
- В клетках, экспрессирующих прогерин, изменялась форма ядерной оболочки, нарушалось расположение ламин, в частности, в метафазе и анафазе они выявлялись в составе цитоплазматических гранул. Также затруднялась разборка ядерной оболочки в ходе митоза.

Использованная литература

1. Sinha, Jitendra Kumar; Ghosh, Shampa; Raghunath, Manchala. "Progeria: a rare genetic premature ageing disorder"
2. Mehmet U. Bikkul, Craig S. Clements, Lauren S. Godwin, Martin W. Goldberg, Ian R. Kill, Joanna M. Bridger), "Farnesyltransferase inhibitor and rapamycin correct aberrant genome organisation and decrease DNA damage respectively, in Hutchinson–Gilford progeria syndrome fibroblasts"
3. Paola Scaffidi, Tom Misteli, "Lamin A—Dependent Nuclear Defects in Human Aging"
4. Gordon, "The Premature Aging Syndrome Hutchinson-Gilford Progeria"
5. Ю.С.Ченцов, "Введение в клеточную биологию"
6. Hetzer, Mertin. "The Nuclear Envelope"
7. Thomas Dechat, Stephen A. Adam, Pekka Taimen, Takeshi Shimi, Robert D. Goldman, "Nuclear Lamins"
8. Geoffrey M Cooper, "The Cell"
9. Michael L. Watson, "The nuclear envelope its structure and relation to cytoplasmic membranes"
10. M. A. D'Angelo, M. W. Hetzer, "The role of the nuclear envelope in cellular organization"
11. Chin Yee Ho and Jan Lammerding, "Lamins at a glance"
12. Thomas Dechat, Katrin Pflieger, Kaushik Sengupta, Takeshi Shimi, Dale K. Shumaker, Liliana Solimando, and Robert D. Goldman, "Nuclear lamins: major factors in the structural organization and function of the nucleus and chromatin"
13. Di Wu, Andrew R Flannery, Helen Cai, Eunae Ko, and Kan Cao, "Nuclear localization signal deletion mutants of lamin A and progerin reveal insights into lamin A processing and emerin targeting"
14. Miron Prokocimer, Maya Davidovich, Malka Nissim-Rafinia, Naama Wiesel-Motiuk, Daniel Z Bar, Rachel Barkan, Eran Meshorer, and Yosef Gruenbaum, "Nuclear lamins: key regulators of nuclear structure and activities"
15. Leslie B Gordon, W Ted Brown, Francis S Collins, Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome

Спасибо за внимание!

