Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный Химико-фармацевтический Университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

ЭКПРЕССИЯ БЕЛКОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ ПРОХОЖДЕНИЕ ФАЗЫ G1 КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА, В КЛЕТКАХ АДЕНОКАРЦИНОМЫ КИШЕЧНИКА HCT116 И H5

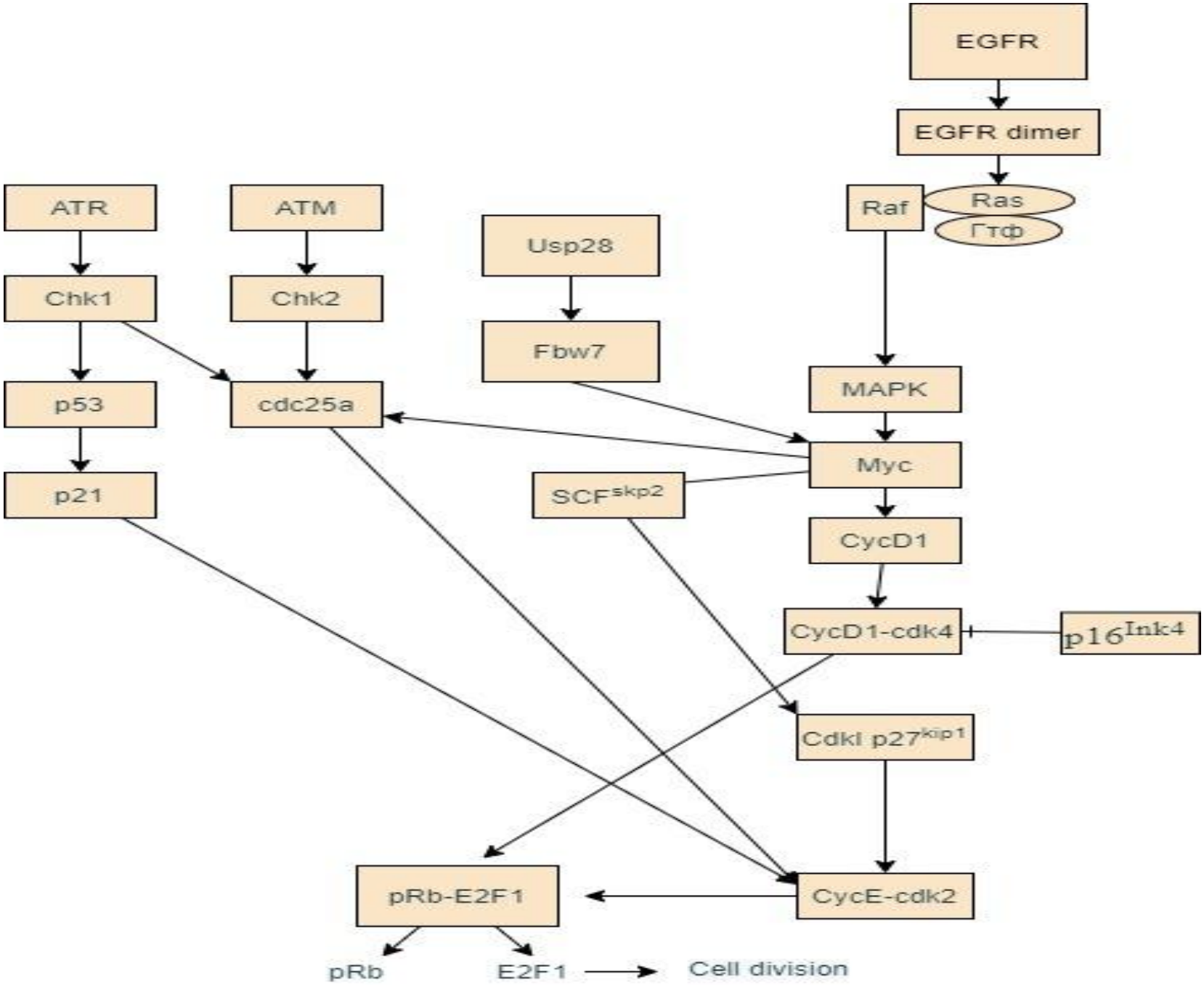
Работа выполнена в лаборатории
внутриклеточной сигнализации
ФГБУН НИЦ РАН
Руководитель отдела и лаборатории, д.б.н.,
профессор Никольский Николай Николаевич

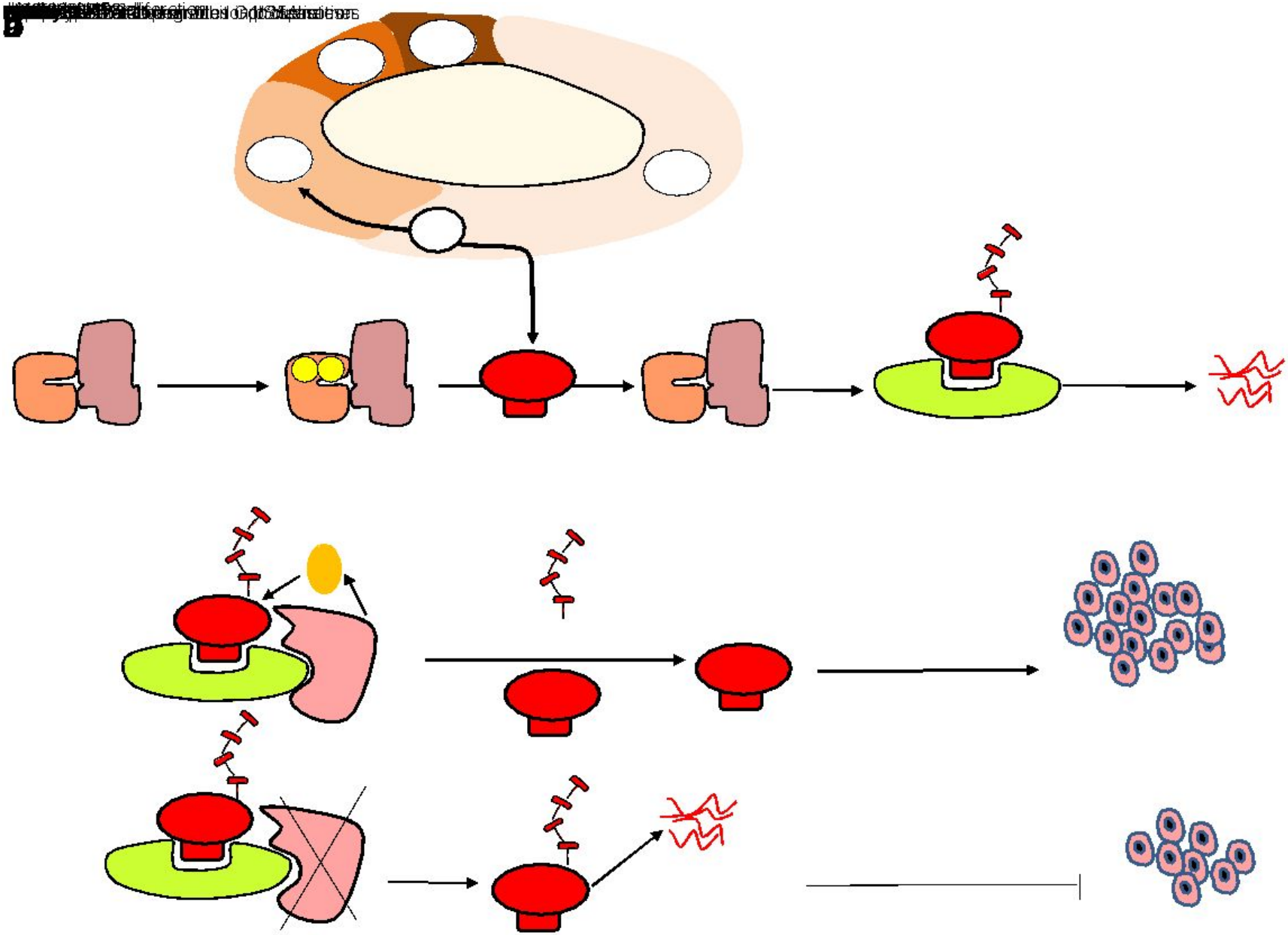
Научный руководитель:
к.б.н., доц. Арсениев Николай Анатольевич

Научный руководитель:
д.б.н., в.н.с. Попов Борис Валентинович

г. Санкт-Петербург
2021г.

Общая схема прохождения клеткой фазы G1





Попов Б., Петрова Е., Рябов В. «Уровень Cdc25A, формирующей контрольную точку R1, стабилизируется в клетках аденокарциномы кишечника HCT116 деубиквитиназой Usp28»

Целью данной работы было изучение роли белков Usp28, Cyclin E, Cyclin D1, Cdk4, Cdk2 и E2F1 в развитии аденокарциномы кишечника человека на клетках линии -HCT116 и с ингибированной деубиквитиназой – H5

Задачи:

- С помощью иммунофлуоресцентного анализа (ИФА) определить изменение экспрессии Cyclin E, Cyclin D1, Cdk4, Usp28 и E2F1 в ходе клеточного цикла в As и 12h точке

- С помощью иммуноблотинга определить изменение уровней Usp28, Cyclin E, Cyclin D1, Cdk4, Cdk2 и E2F1 в ходе клеточного цикла

- Охарактеризовать по уровню продукции в клетках Usp28 возможную взаимосвязь между Usp28 и Cyclin E, Cyclin D1, Cdk4 , Cdk2 и E2F1

Иммунофлюоресцентная оценка экспрессии исследуемых белков в клетках HCT116 и H5 в As точке

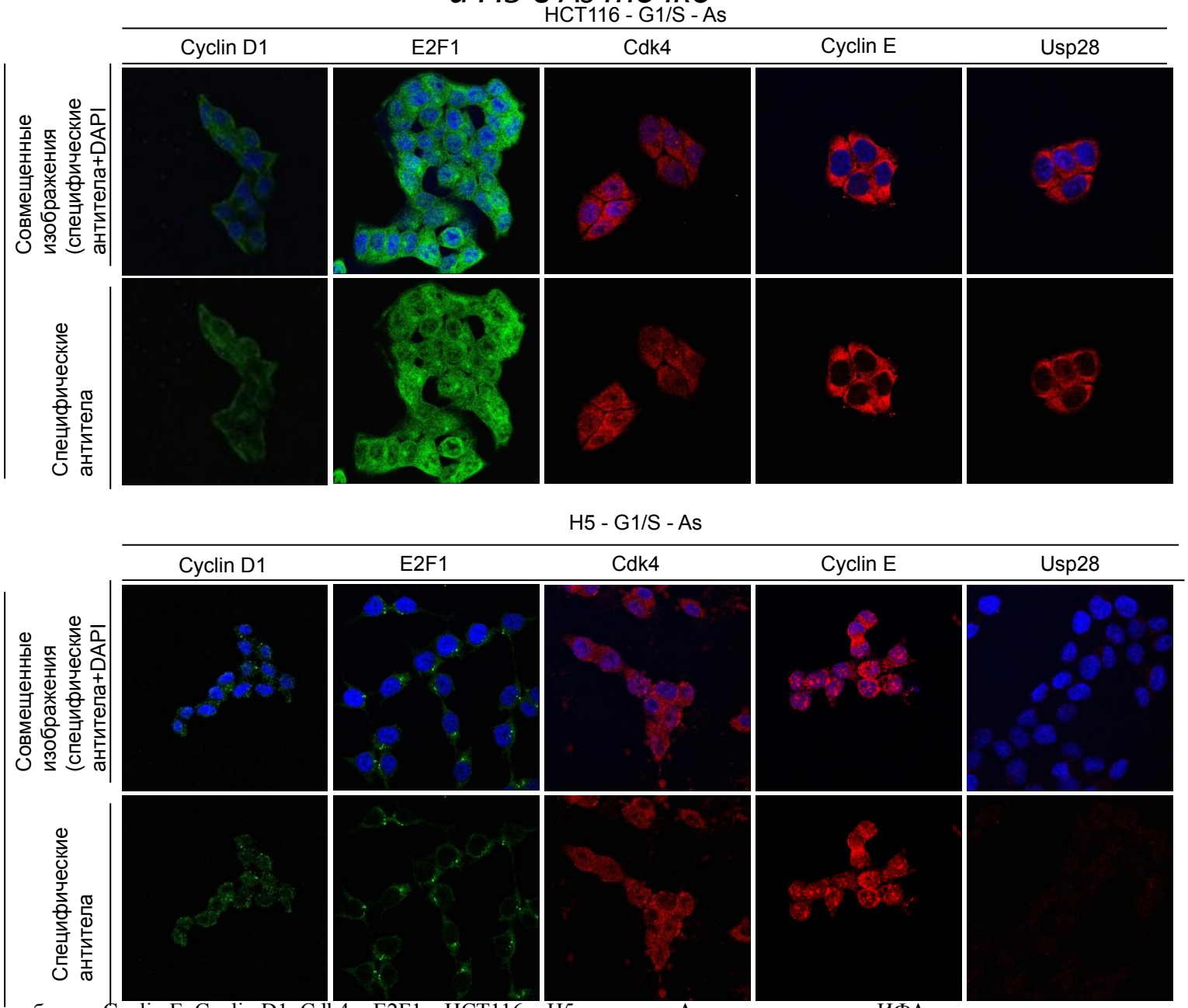


Рис.1. Экспрессия белков Cyclin E, Cyclin D1, Cdk4 и E2F1 в HCT116 и H5 клетках в As точке по данным ИФА

Иммунофлюоресцентная оценка экспрессии исследуемых белков в клетках HCT116 и H5 в точке G1/S

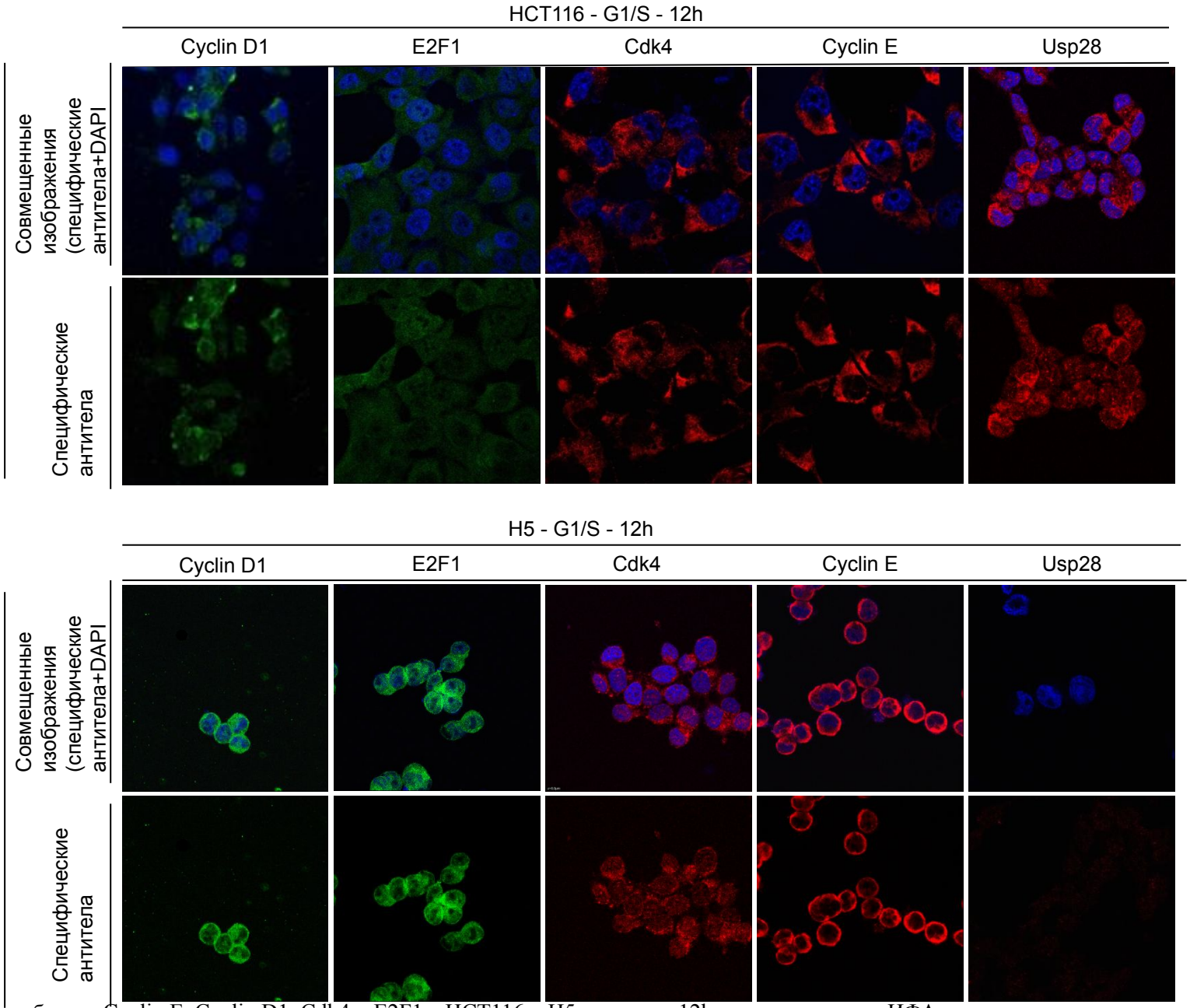


Рис.2. Экспрессия белков Cyclin E, Cyclin D1, Cdk4 и E2F1 в HCT116 и H5 клетках в 12h точке по данным ИФА

Оценка продукции исследуемых белков в клетках H5 с помощью иммуноблота

Мембрана PVDF, образец H5- As. Окраска на b-actin, Cyclin E, Cyclin D1, cdk4, E2F1, usp28 .

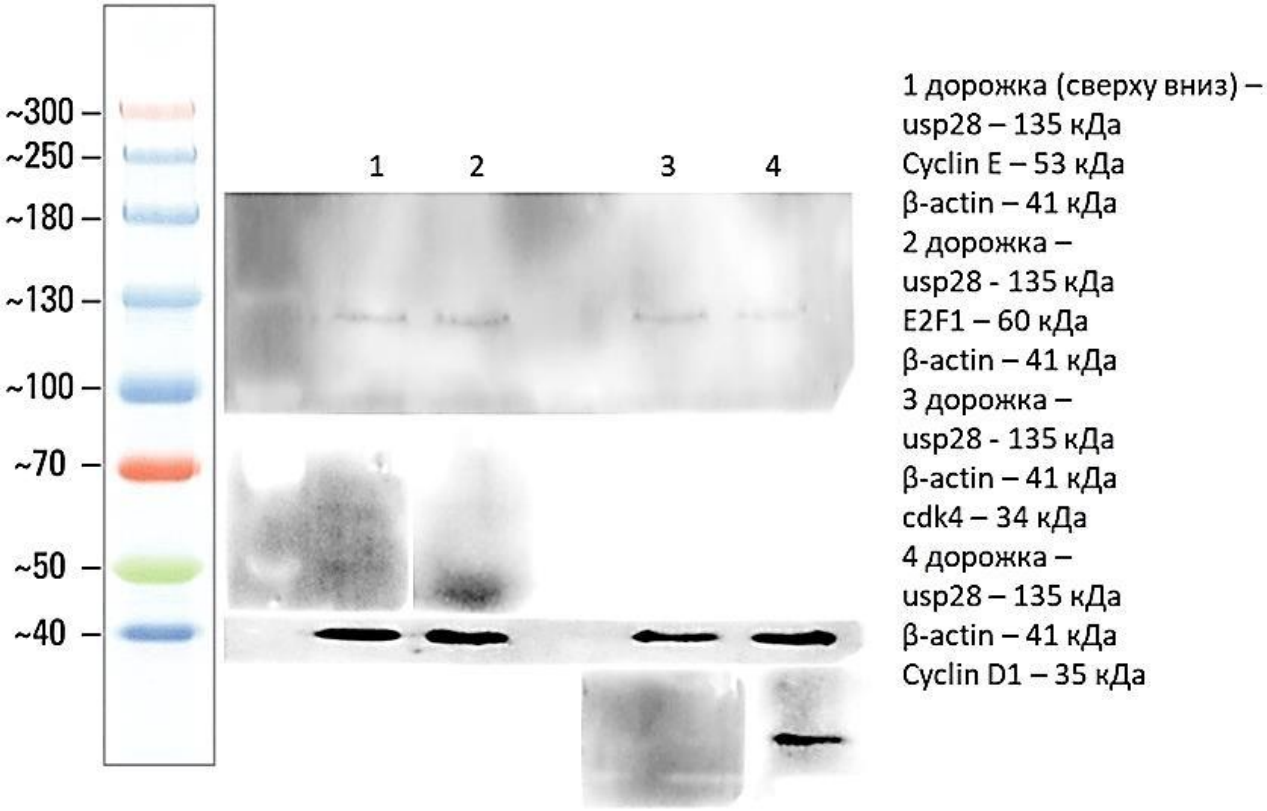
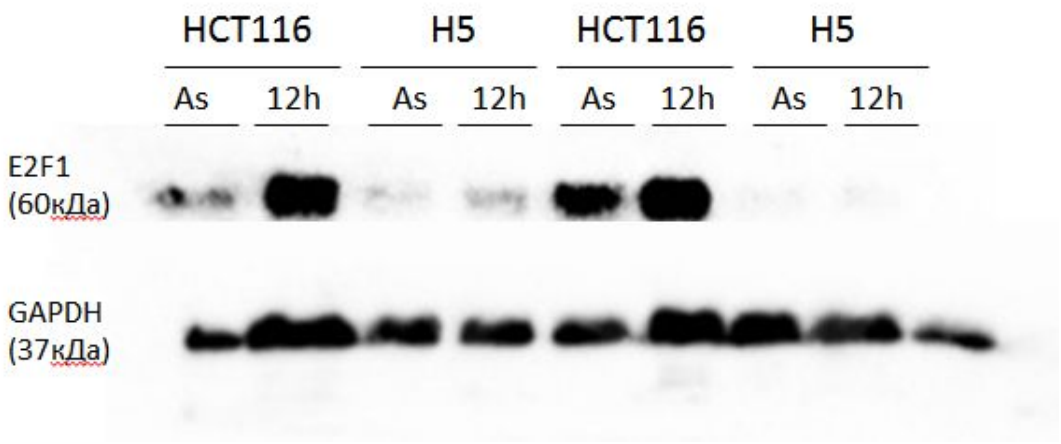


Рис.3 Иммуноблот продукции Usp28, Cyclin E, Cyclin D1, Cdk4 и E2F1 в клетках H5 в As точке

Оценка продукции исследуемых белков в клетках HCT116 и H5 с помощью иммуноблота

(а)



(б)

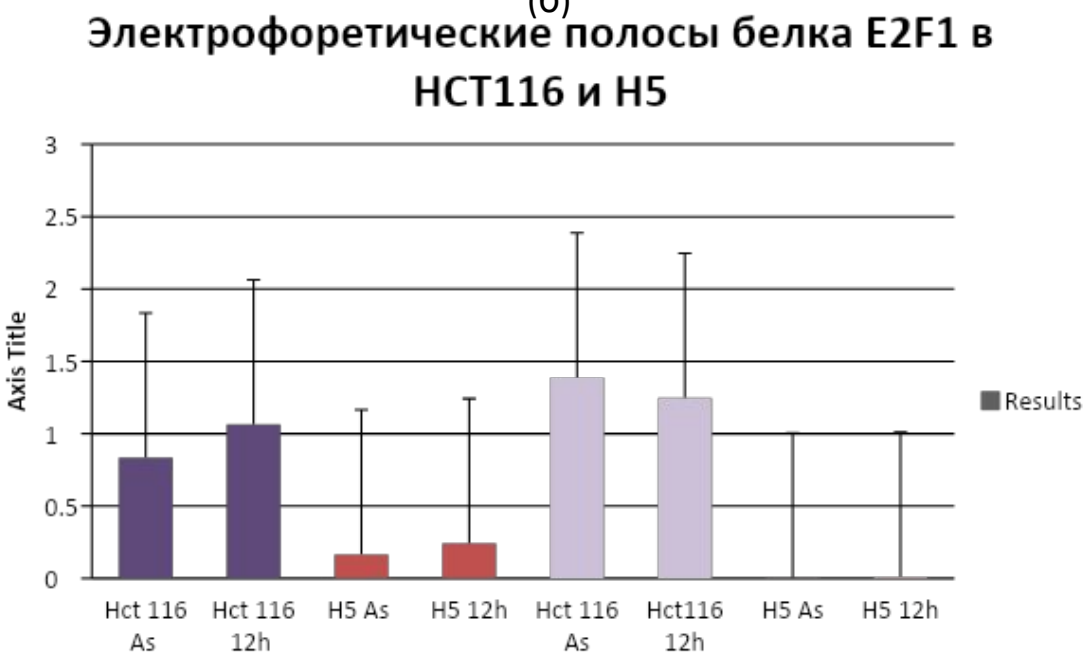
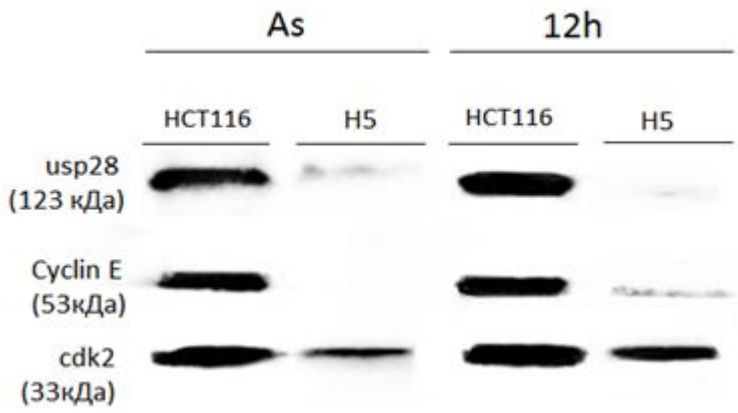


Рис.4 а- Иммуноблот продукции E2F1 в клетках H5 и HCT116, б- графическое представление экспрессии Usp28, CycE, cdk2 в клетках H5 и HCT116 по данным вестерн-блота

Оценка продукции исследуемых белков в клетках HCT116 и H5 с помощью иммуноблота

(а)



(б)

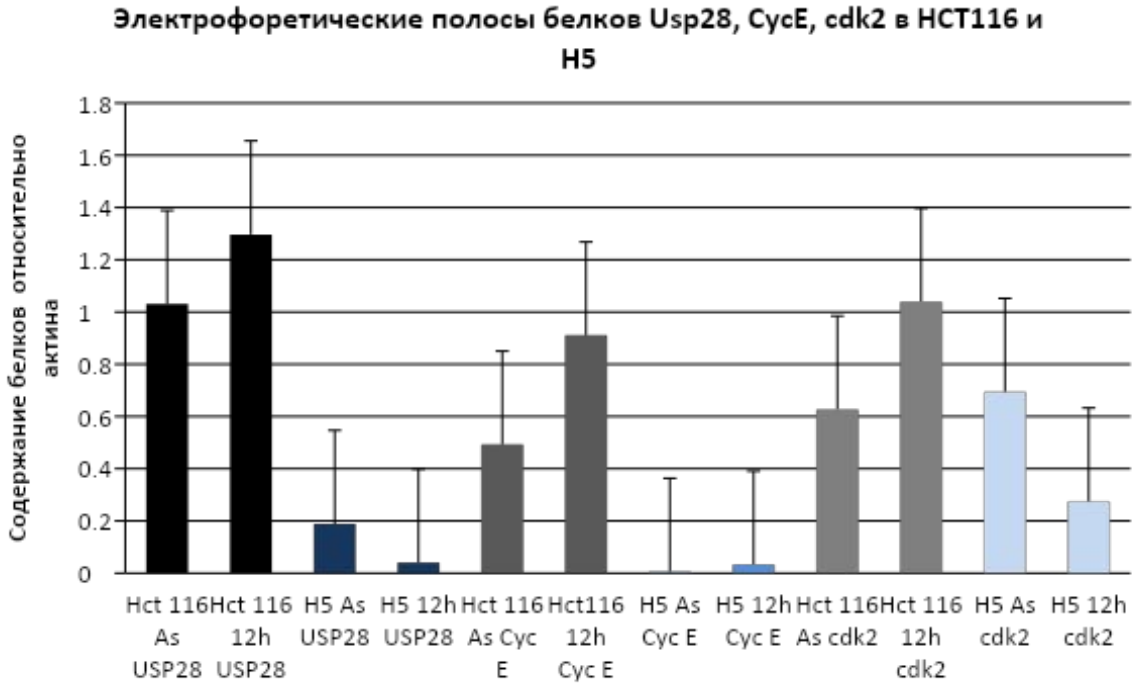


Рис.5 а- Иммуноблот продукции Usp28, CycE, cdk2 в клетках H5 и HCT116, б- графическое представление экспрессии Usp28, CycE, cdk2 в клетках H5 и HCT116 по данным вестерн-блота

Выводы:

1) По результатам ИФА экспрессия исследуемых белков ярко выражена в клетках HCT116.

2) По результатам WB в клетках с ингибированной деубиквитиназой Usp28, продукция исследуемых белков выражена слабо, по сравнению с материнской линией.

3) Наблюдается прямая зависимость между изменением количества экспрессируемой деубиквитиназы и исследуемых белков в ходе клеточного цикла в фазе перехода G1/S.

Результаты дают основание предположить, что деубиквитиназа Usp28 способствует переходу G1/S в клеточном цикле, стимулируя пролиферацию клеток и ускоряя развитие злокачественной опухоли.

Таким образом, с большой вероятностью можно предположить, что деубиквитиназу Usp28 следует рассматривать как наиболее перспективный кандидат на мишень для новой таргетной фармакотерапии аденокарциномы кишечника.

Спасибо за внимание!