

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

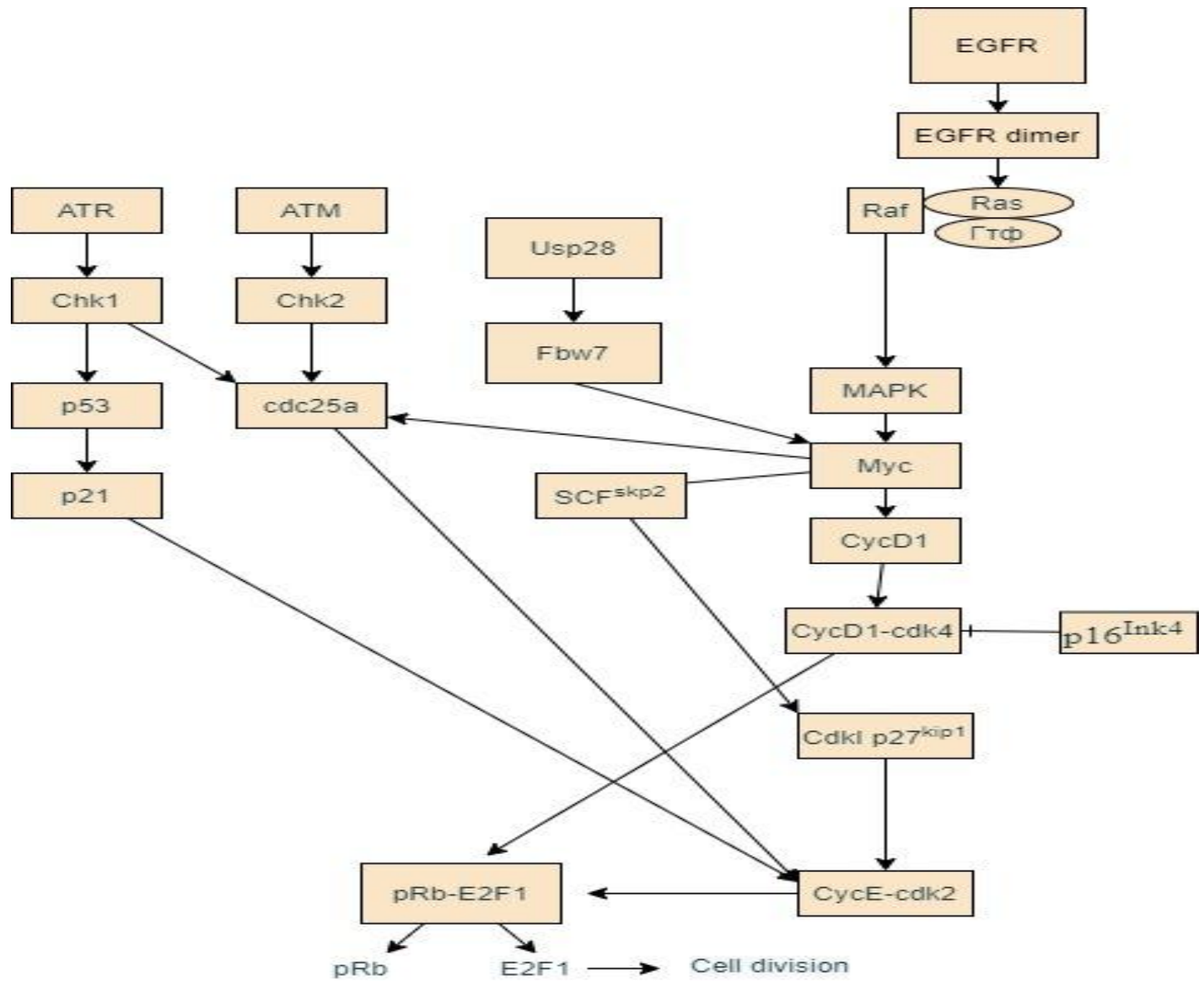
Работа выполнена в лаборатории
внутриклеточной сигнализации
ФГБУН НИЦ РАН

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

Общая схема прохождения клеткой фазы G1



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

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

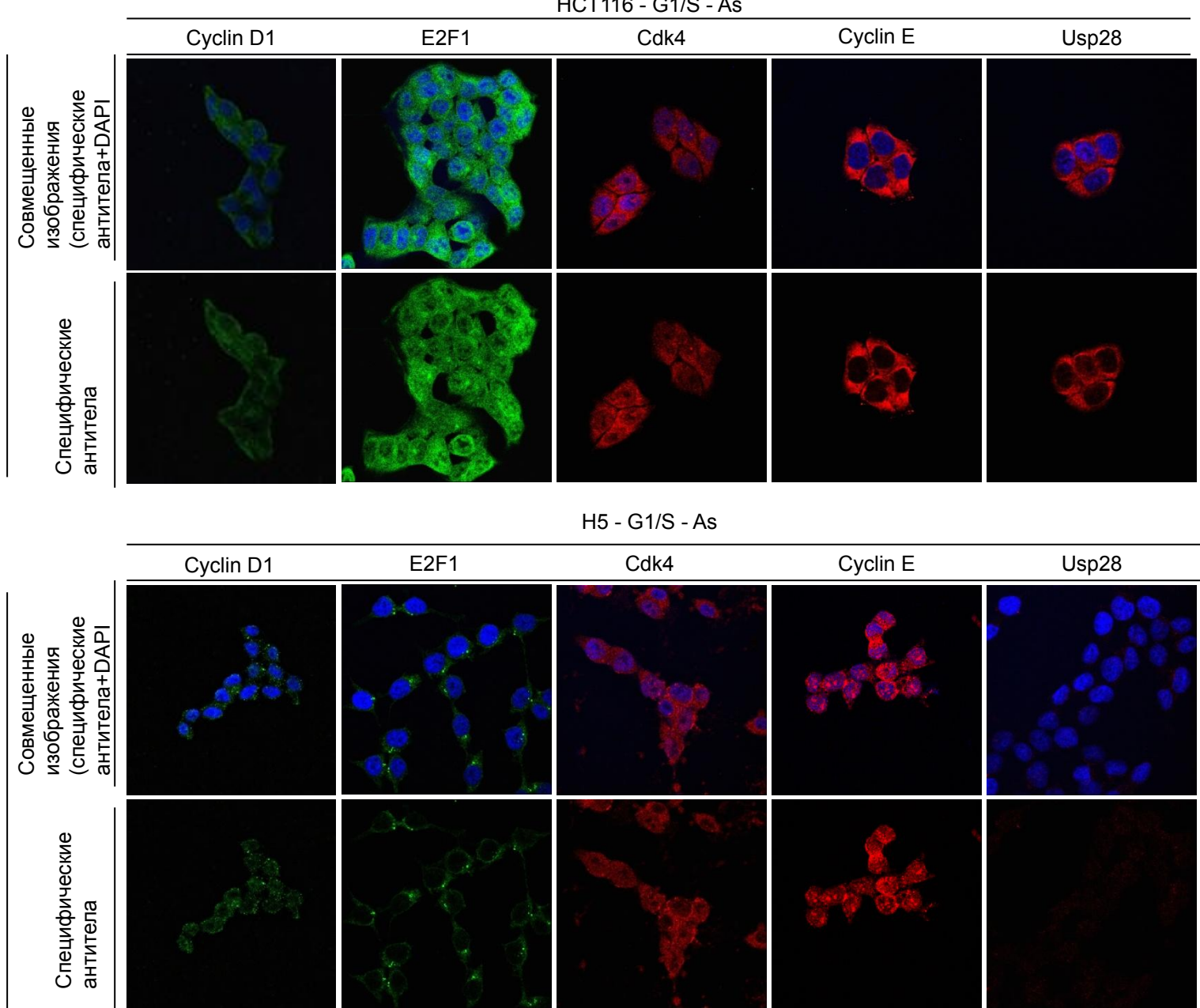


Рис.1. Экспрессия белков Cyclin E, Cyclin D1, Cdk4 и E2F1 в HCT116 и H5 клетках в As точке по данным ИФА

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

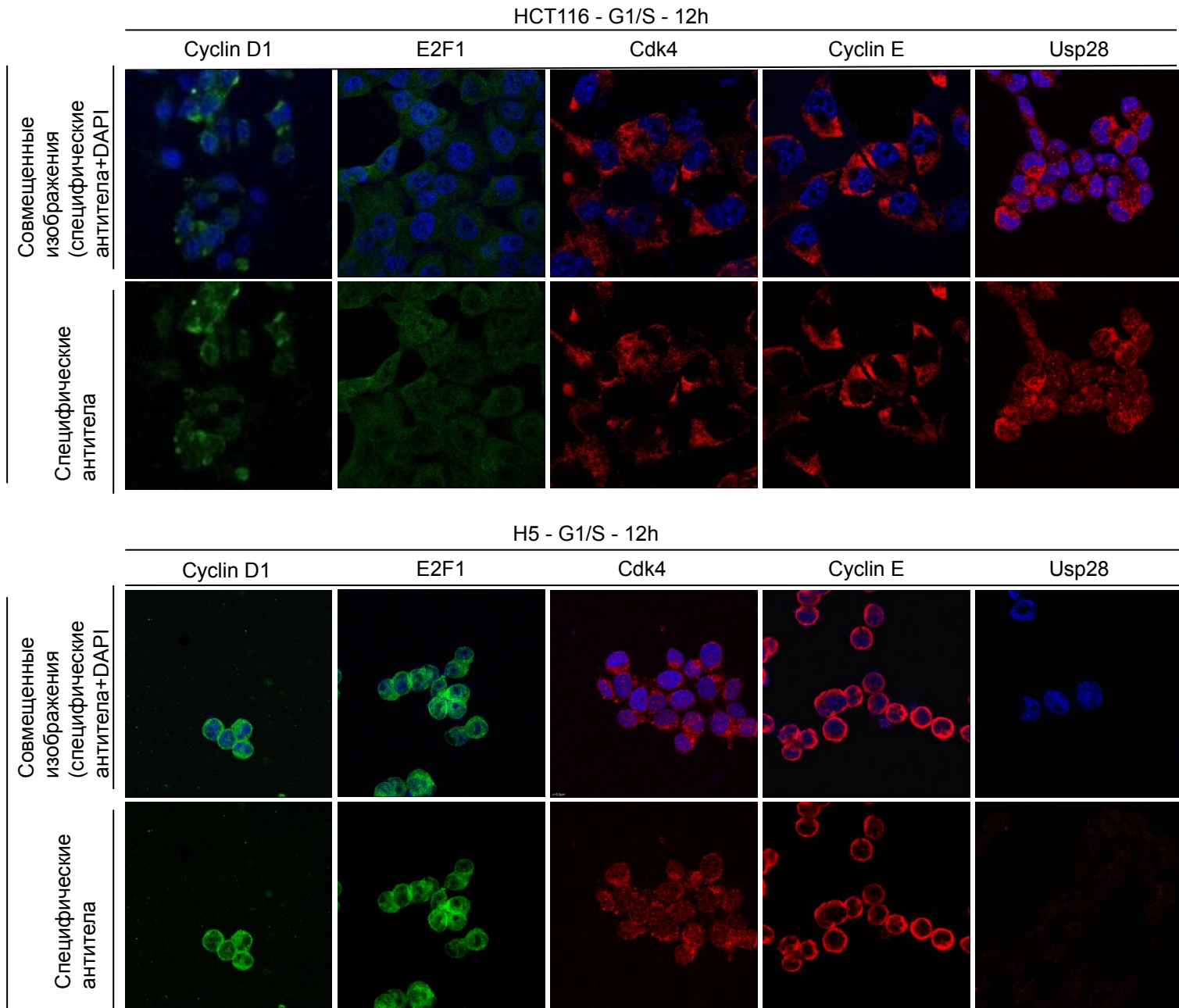


Рис.2. Экспрессия белков Cyclin E, Cyclin D1, Cdk4 и E2F1 в HCT116 и H5 клетках в 12h точке по данным ИФА

Оценка продукции исследуемых белков в клетках H5 с помощью иммуноблота

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

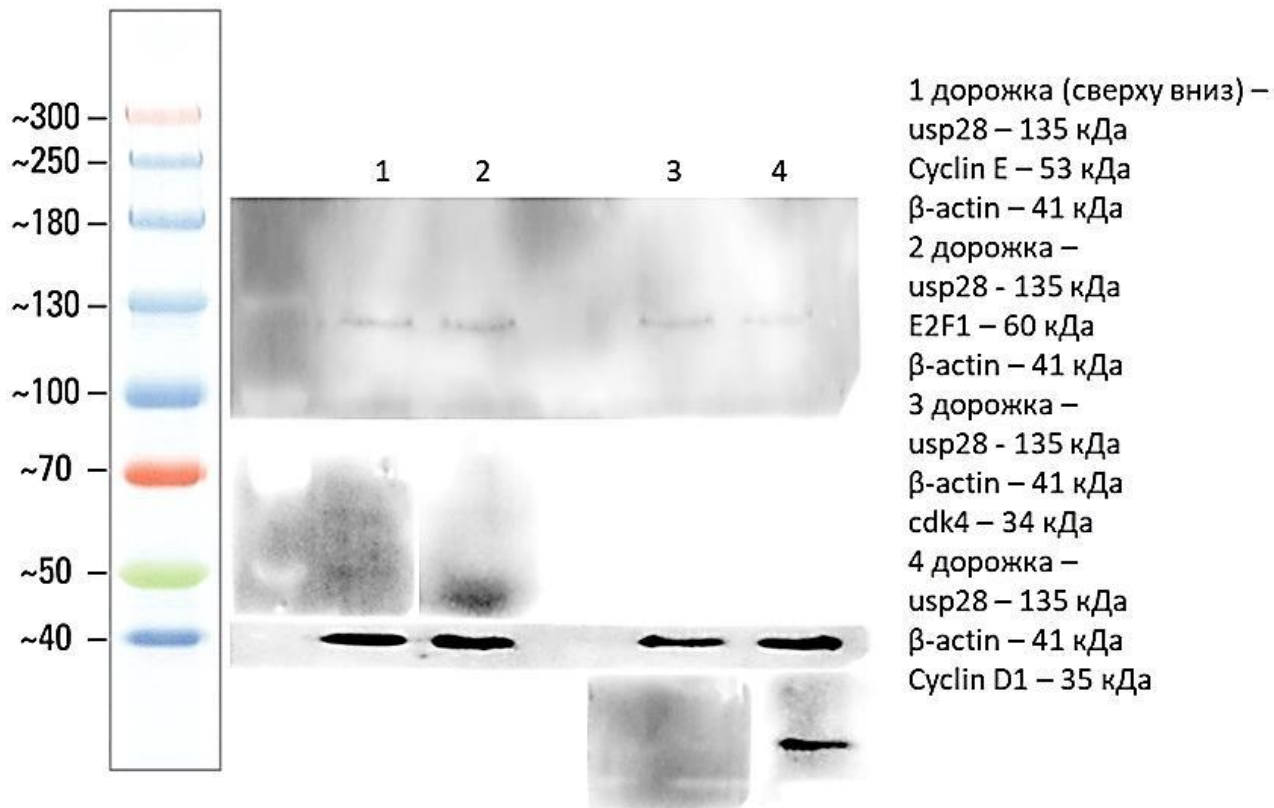
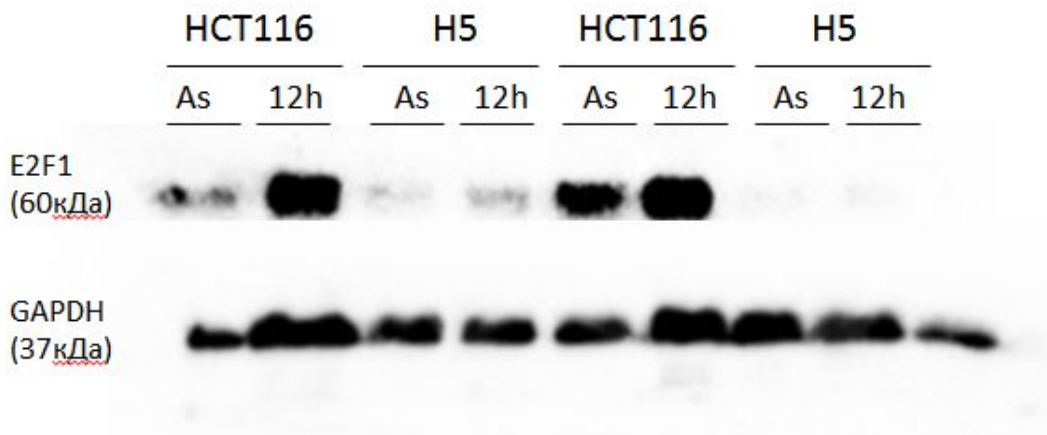


Рис.3 Иммуноблот продукции Usp28, Cyclin E, Cyclin D1, Cdk4 и E2F1 в клетках H5 в As точке

Оценка продукции исследуемых белков в клетках НСТ116 и Н5 с помощью иммуноблота



(б)
Электрофоретические полосы белка E2F1 в НСТ116 и Н5

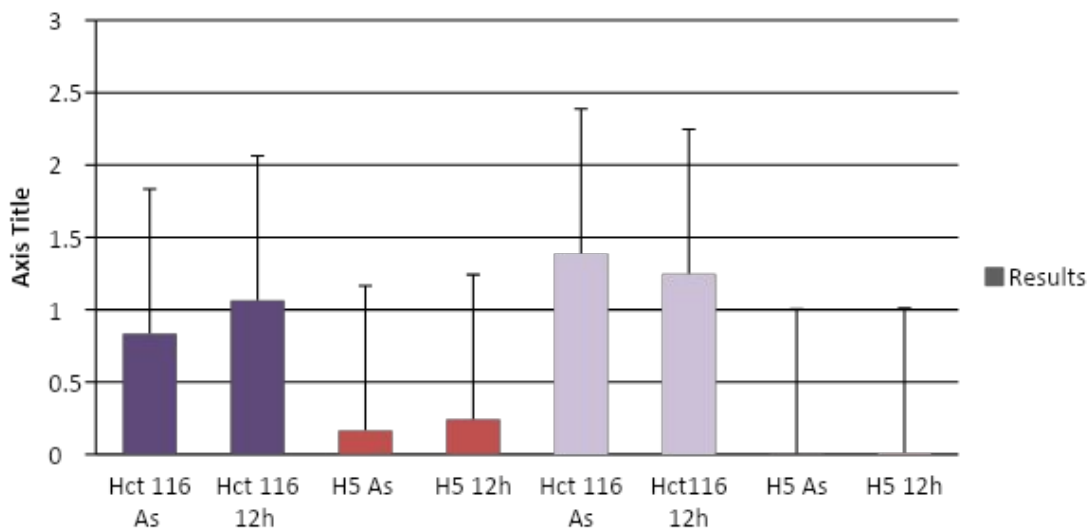
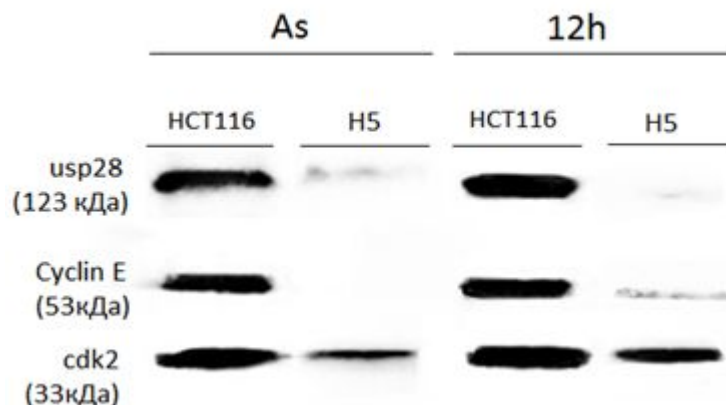


Рис.4 а- Иммуноблот продукции E2F1 в клетках Н5 и НСТ116, б- графическое представление экспрессии Usp28, CусЕ, cdk2 в клетках Н5 и НСТ116 по данным вестерн-блота

Оценка продукции исследуемых белков в клетках НСТ116 и Н5 с помощью иммуноблота



(б)

Электрофоретические полосы белков Usp28, CycE, cdk2 в НСТ116 и Н5

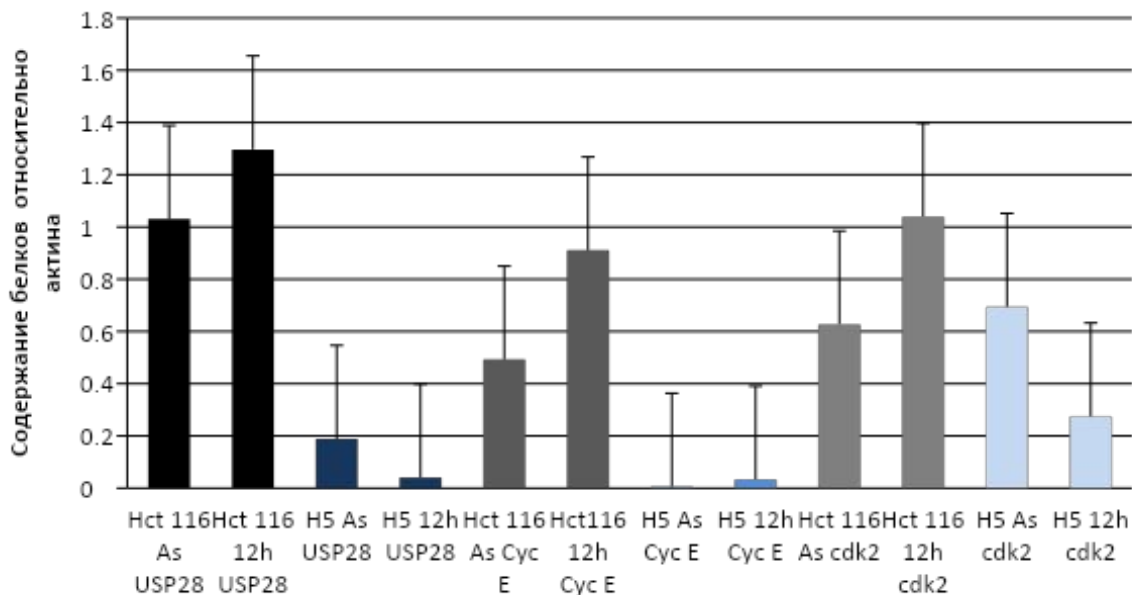


Рис.5 а- Иммуноблот продукции Usp28, CycE, cdk2 в клетках Н5 и НСТ116, б- графическое представление экспрессии Usp28, CycE, cdk2 в клетках Н5 и НСТ116 по данным вестерн-блота

Выводы:

- 1) По результатам ИФА экспрессия исследуемых белков ярко выражена в клетках НСТ116.
- 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!