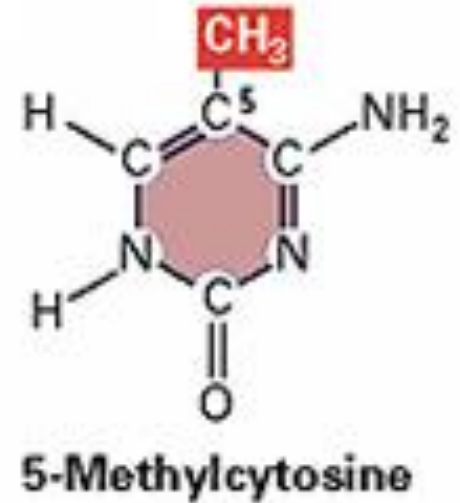
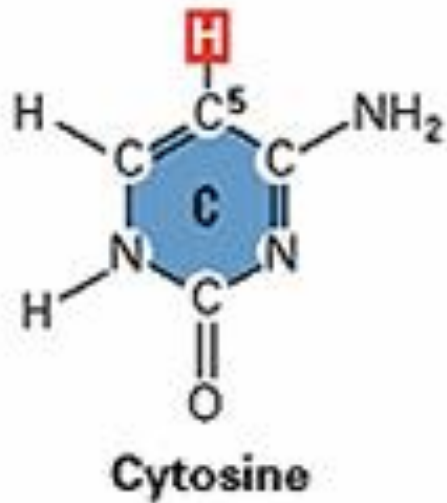


**Паттерн метилирования ДНК регуляторных
областей генов *Oct4* и *Nanog* полевки
*Microtus rossiaemeridionalis***

Филатова Анна Владимировна
Новосибирский государственный университет

Работа выполнена в лаборатории эпигенетики развития ИЦиГ СО РАН
Научный руководитель к.б.н. Медведев С.П.

Метилирование ДНК

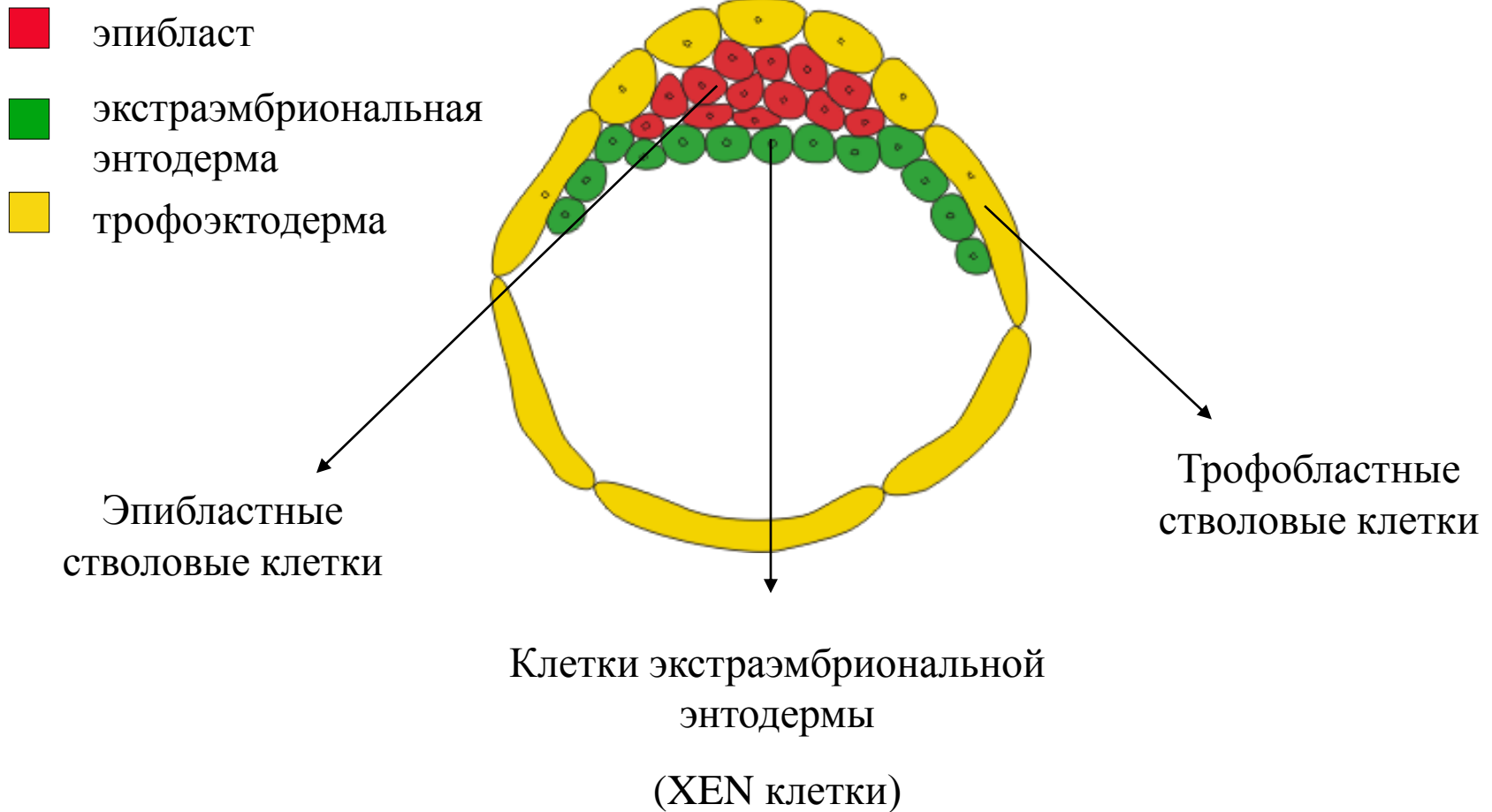


Объект исследования



Microtus rossiaemeridionalis

Происхождение линий стволовых клеток из клеток бластоцисты



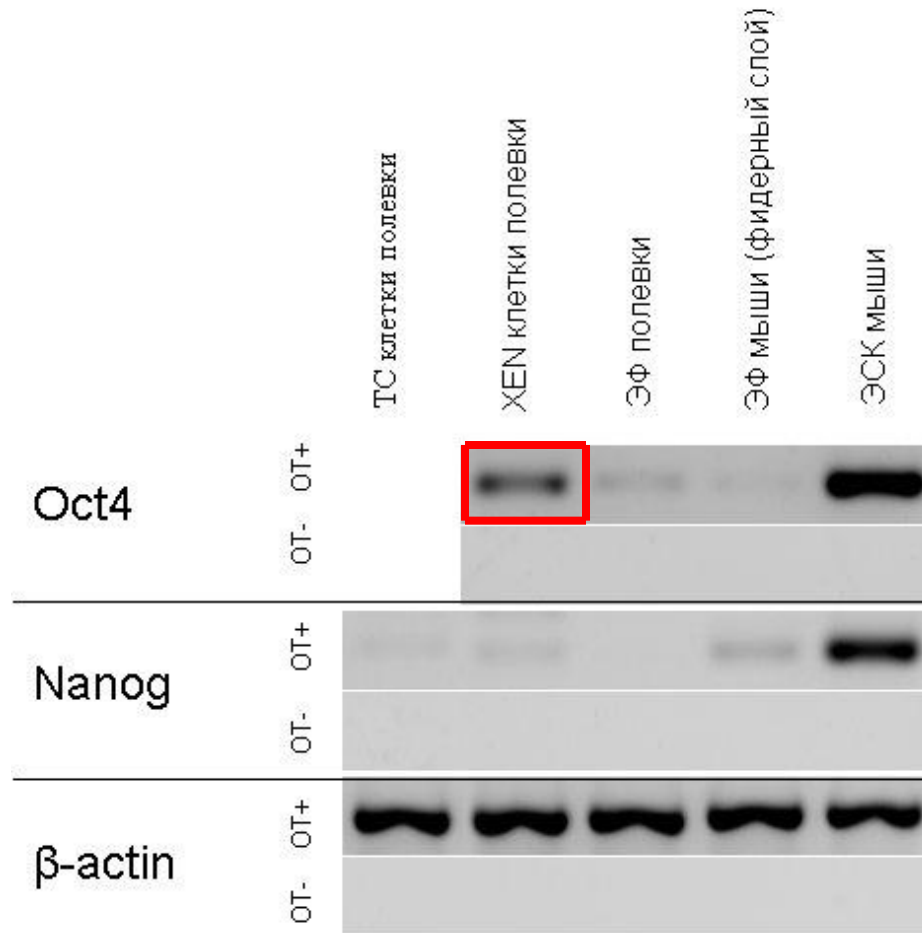
Цель работы:

Исследование метилирования ДНК регуляторных областей генов *Oct4* и *Nanog* в трофобластных стволовых клетках, клетках экстраэмбриональной энтодермы и эмбриональных фибробластах полевки *Microtus rossiaemeridionalis*.

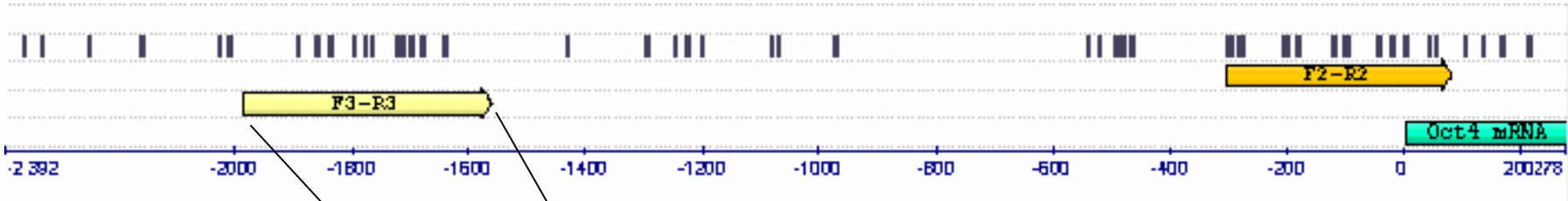
Задачи:

- Изучить экспрессию генов *Oct4* и *Nanog* в ТС клетках, XEN клетках и эмбриональных фибробластах полевки *M. rossiaemeridionalis* методом ОТ-ПЦР.
- Провести анализ распределения CpG-динуклеотидов в известных нуклеотидных последовательностях регуляторных областей генов *Oct4* и *Nanog* полевки *Microtus rossiaemeridionalis*.
- С помощью метода бисульфитного секвенирования изучить паттерн метилирования ДНК регуляторных областей генов *Oct4* и *Nanog* и провести сравнение полученных данных с известными для мыши.
- Из изученных клеток выбрать наиболее перспективные для использования в экспериментах по репрограммированию.

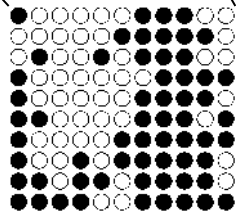
Изучение транскрипции генов *Oct4* и *Nanog*



Изучение паттерна метилирования промоторной области гена *Oct4* полевки

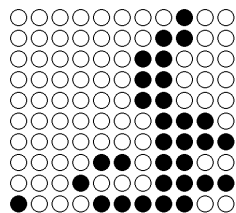


Эмбриональные
фибробласты



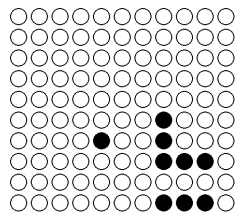
56 %

Трофобластные
стволовые
клетки



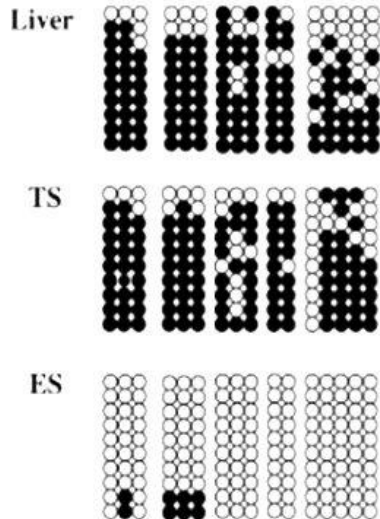
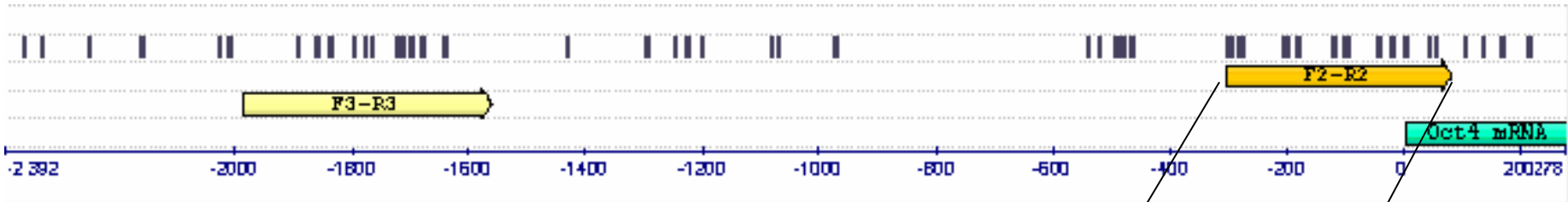
28 %

Клетки
экстраэмбриональной
энтодермы

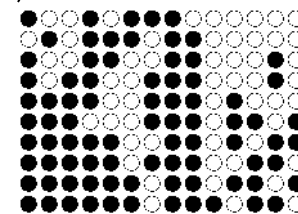


8 %

Изучение паттерна метилирования промоторной области гена *Oct4* полевки

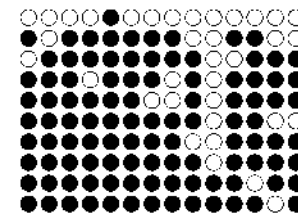


Эмбриональные фибробласты



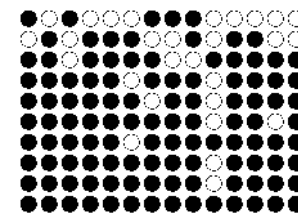
59 %

Трофобластные стволовые клетки



75 %

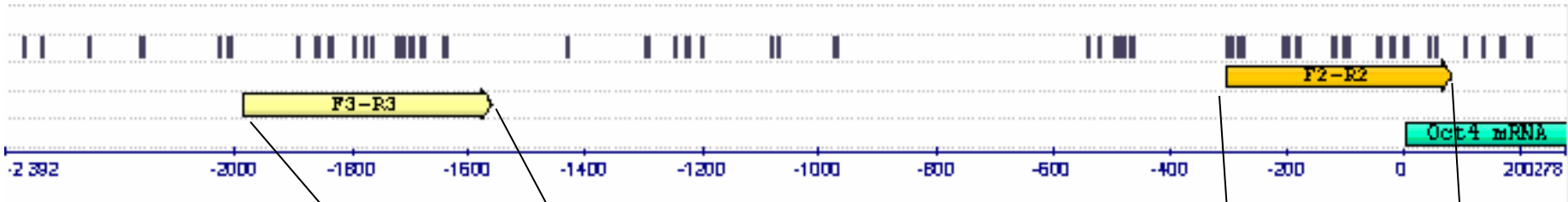
Клетки экстраэмбриональной энтодермы



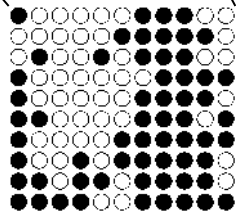
70 %

9

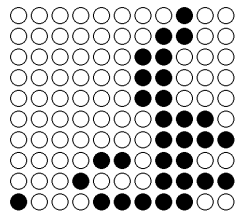
Изучение паттерна метилирования промоторной области гена *Ost4* полевки



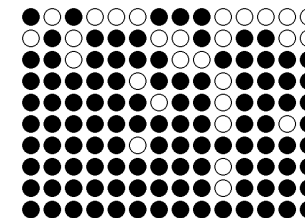
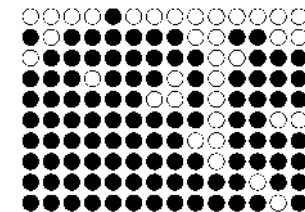
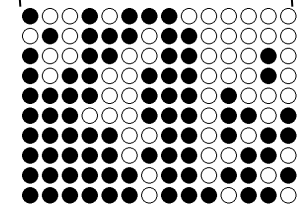
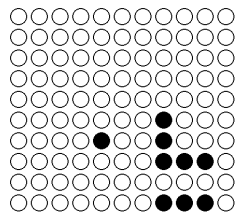
Эмбриональные
фибробласты



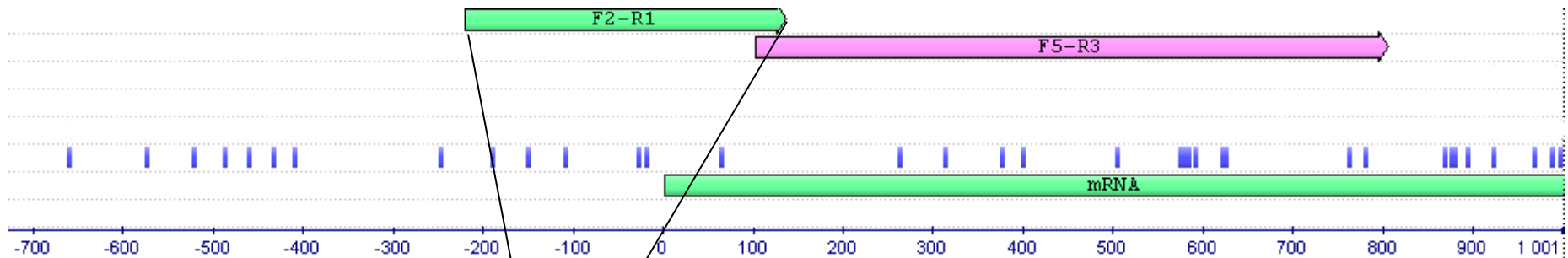
Трофобластные
стволовые
клетки



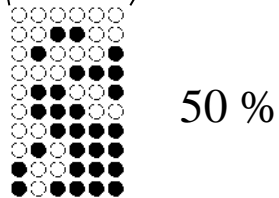
Клетки
экстраэмбриональной
энтодермы



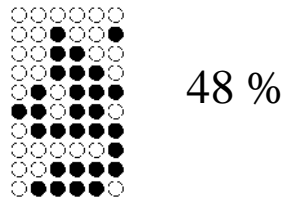
Изучение паттерна метилирования 5'- области гена *Nanog* полевки



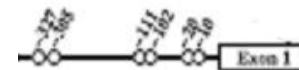
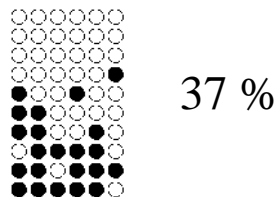
Эмбриональные
фибробласты



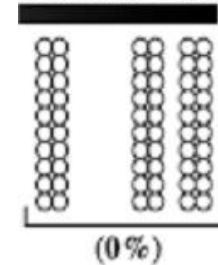
Трофобластные
стволовые
клетки



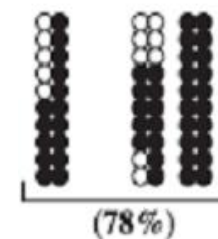
Клетки
экстраэмбриональной
энтодермы



Proximal T-DMR

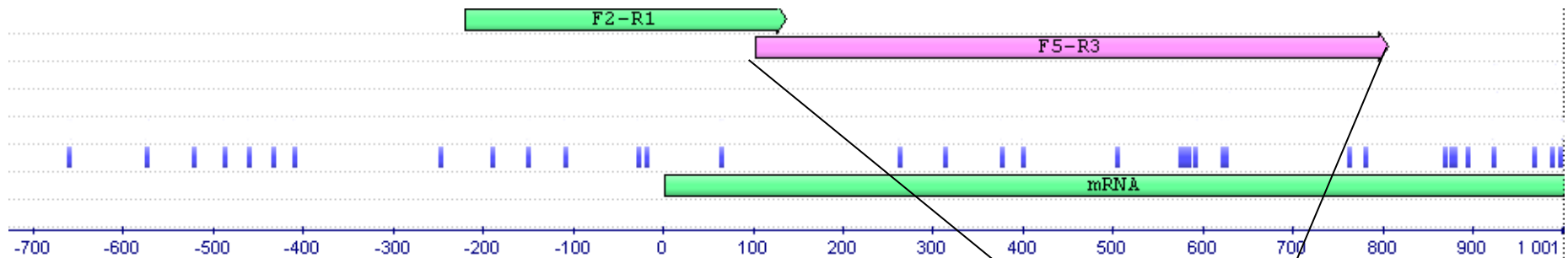


Эмбриональные
стволовые
клетки
мышь

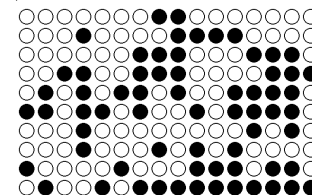


Трофобластные
стволовые
клетки
мышь

Изучение паттерна метилирования 5'- области гена *Nanog* полевки

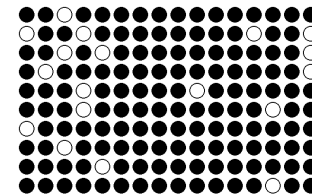


Эмбриональные
фибробласты



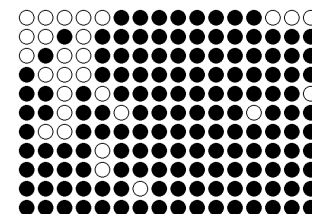
41 %

Трофобластные
стволовые
клетки



89 %

Клетки
экстраэмбриональной
энтодермы



73 %

12

Выводы

1. В ЭФ полевки область дистального энхансера гена *Oct4* метилирована на 56%, а область минимального промотора метилирована на 59 %, при этом ген не транскрибируется в этих клетках.
2. В XEN клетках полевки область дистального энхансера гена *Oct4* метилирована на 8%, в то время как минимальный промотор метилирован на 70%. Ген транскрибируется на низком уровне. Таким образом, метилирования области минимального промотора гена *Oct4* полевки является не достаточным для полного прекращения транскрипции.
3. Метилирование минимального промотора гена *Nanog* варьирует в пределах от 37% до 50% в ТС клетках, XEN клетках и эмбриональных фибробластах. Ген не транскрибируется в этих линиях клеток.
4. Начало транскрибируемой области гена *Nanog* гиперметилировано в ТС и XEN клетках полевки, метилирование около 80%, и слабее метилировано в ЭФ – 41%. Возможно, данный район является дифференциально-метилированным в экстраэмбриональных и эмбриональных линиях клеток.
5. Можно сделать предварительный вывод о том, что линия XEN клеток полевки является наиболее подходящей для репрограммирования к плюрипотентному состоянию, так как в ней наблюдается транскрипция гена *Oct4* и область дистального энхансера этого гена метилирована слабо.