

Aktyvaus chromatino analizė žmogaus promielocitinės leukemijos HL-60 ląstelių granulocitinės diferenciacijos metu

SANTRAUKA

Histonų potransliacinės modifikacijos sąlygoja chromatino struktūros pakitimus, lemiančius genų, atsakingų už ląstelėje vykstančių įvairių procesų, tokių kaip proliferacija, diferenciacija, apoptozė reguliavimą.

Šiame darbe įvertinome chromatino baltymų, histonų H3 ir H4, modifikacijų dinamiką HL-60 ląstelėse, indukuotose granulocitinei diferenciacijai su retinoine rūgštimi (RA) ir histonų deacetilazių slopikliais, fenilo butiratu (PB) ir vitaminu B3 (vitB3) bei jų kombinacijomis. Aktyvaus chromatino baltymų kompleksai proliferuojančiose ir diferenciacijai indukuotose ląstelėse buvo analizuojami chromatino imunoišsodinimo metodu, naudojant antikūnus prieš histonus - hiperacetilintą H4 ir trimetil-Lys4 H3, esančius aktyvaus chromatino vietose mononukleosomų frakcijoje. Atlikta baltymų, esančių komplekse su modifikuotais histonais H3 ir H4 proteominė analizė vienmatėje (SDS/PAGE) ir dvimatėje (2DE) elektroforezės sistemose. Nustatyti baltymai, sąveikaujantys su hiperacetilintu H4 ir trimetil-Lys4 H3. Tai baltymai, dalyvaujantys genų raiškos iniciavime bei chromatino modifikacijose, t.y. transkripcijos faktorius Sp1, metionino acetiltransferazė, DNR metiltransferazė ir kt. Taip pat patodyta, kad HL-60 ląstelėse p21^{WAF1/CIP} geno raiška priklauso nuo pasirinkto induktoriaus. Apibendrinant manome, kad poveikio variantas - 3mM PB su 5mM vit.B₃ 6 val., nuplovus tolesnis poveikis su 1μM RA ir 5mM vit.B₃ 24 val., galėtų būti tinkamas leukeminių ląstelių diferenciacinei terapijai.