

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Gyvybės mokslų centras

Biomokslų institutas

DANIELIUS MOCKUS

**Demetilazės sukeltos histonų modifikacijų įtakos genų raiškai vėžinėse
ląstelėse tyrimas ChIP metodu**

Genetikos magistrinių studijų baigiamasis darbas

Darbas atliktas UAB „Thermo Fisher Scientific“
Mokslinių tyrimų ir eksperimentinės plėtros centre

Darbo vadovai
Dr. A. Lagunavičius
J. Rubekina

Vilnius 2020

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Gyvybės mokslų centras

Biomokslų institutas

DANIELIUS MOCKUS

**Demetilazės sukeltos histonų modifikacijų įtakos genų raiškai vėžinėse ląstelėse tyrimas
ChIP metodu**

Genetikos magistrinių studijų baigiamasis darbas

SANTRAUKA

Potransliacinė histonų modifikacija - vienas iš epigenetinių mechanizmų, lemiantis nuo DNR sekos nepriklausomus fenotipinius pokyčius. „Histonų kodą“ atpažįsta ir interpretuoja baltymų kompleksai, kuriuose yra epigenetinius žymenis uždedantys, atpažįstantys ir nutrinantys fermentai. Baltymų – DNR sąveikom in vivo tirti naudojamas chromatino imunoprecipitacijos (ChIP) metodas, kurio metu histonų modifikacijas atpažįstančių antikūnų pagalba ištraukta DNR toliau analizuojama PGR ar sekoskaitos metodais.

Šio darbo metu ChIP metodu iširta demetilazės sąlygojama histonų modifikacijų įtaka genų raiškai vėžinėse ląstelėse. Genų raiškos pokyčiai, veikiant ląsteles demetilazės inhibitoriumi, buvo įvertinti kPGR ir AT-kPGR metodais ir gauti rezultatai palyginti su literatūroje randamais duomenimis. Darbo metu nustatyta, kad tirtose ląstelėse demetilazės inhibitorius ir literatūroje minėta interferentinė RNR lemia skirtingą efektą tirtu histono demetilinimui ties tirtų genų promotorinėm sritim ir to pasekoje skirtingus tirtų genų raiškos pokyčius.

VILNIUS UNIVERSITY

Life Sciences Center

Institute of Biosciences

DANIELIUS MOCKUS

Investigation of the Effect of Demethylase Induced Histone Modifications on Gene Expression in Cancer Cells Using the ChIP Method

Master Thesis

SUMMARY

Post-translational modification of histones is one of the epigenetic mechanisms leading to DNA sequence-independent phenotypic change. The "histone code" is recognized and interpreted by protein complexes that include enzymes which either add, recognize or remove epigenetic marks. Chromatin immunoprecipitation (ChIP) method is used to study protein – DNA interactions *in vivo*. ChIP uses antibodies that recognize the histone modifications to extract DNA, which is later analyzed using PCR or DNA sequencing methods.

In this study, ChIP was used to investigate the effect of demethylase induced histone modifications on gene expression in cancer cells. Changes in gene expression impacted by a demethylase inhibitor were evaluated using qPCR and RT-qPCR methods, and the results were compared to the data found in literature. During the study, it was found that the demethylase inhibitor and the interfering RNA mentioned in literature affects the histone demethylation differently and in turn affects the expression of the studied genes differently.