

Экспрессия miR-21 и ее генов-мишеней ACAT1, ARMCX1 и PTEN в печени крыс при воздействии ДДТ

Научный руководитель – Гуляева Людмила Федоровна

Чанышев Михаил Дамирович

Кандидат наук

Новосибирский государственный университет, Факультет естественных наук,
Новосибирск, Россия
E-mail: chanish@mail.ru

МикроРНК представляют собой малые некодирующие одноцепочечные РНК длиной 19-23 нуклеотида которые способны комплементарно связываться с определенными мРНК (мишенями) в их 3'-нетранслируемых участках (3'-UTR), приводя к подавлению трансляции мРНК и ее расщеплению. Таким образом, микроРНК регулируют экспрессию большинства генов и участвуют в многочисленных биологических процессах в клетке, включая деление, дифференцировку и апоптоз. Изучение регуляции экспрессии генов необходимо для лечения и диагностики многочисленных заболеваний, включая онкологические заболевания. Одной из наиболее изученных микроРНК на сегодняшний день является онкогенная miR-21, экспрессия которой повышена в различных типах опухолей. Установлено, что введение животным различных химических соединений при водит к изменению уровня экспрессии микроРНК, в т.ч. и miR-21.

В настоящей работе оценивалась регуляция генов miR-21 и ее возможные последствия. ДДТ вводился самкам крыс линии Wistar (n = 15) внутривентриально раз в неделю в течение трех месяцев в дозах 10 мг/кг («низкая доза», n = 5) и 50 мг/кг («высокая доза», n = 5), крысам контрольной группы (n = 5) вводилось растительное масло. При помощи ПЦР был измерен уровень miR-21, в качестве контроля использовалась мРНК U6, обратная транскрипция осуществлялась с использованием специфических петлевых праймеров (stem-loop primer). Введение ДДТ приводило к дозоспецифичному увеличению уровня miR-21 (приблизительно в 1,5 и 3 раза для низкой и высокой дозы соответственно).

При помощи биоинформатического анализа были обнаружены потенциальные гены-мишени miR-21. Т.к. большинство мРНК регулируются несколькими микроРНК, мы выбрали из списка мишеней те гены, которые регулируются только miR-21: *ACAT1* (ген ацетил-СоА ацетилтрансферазы 1) и *ARMCX1* (ген, кодирующий мембранный белок из семейства ALEX, экспрессируется в печени в незначительном количестве). Также был выбран ген *PTEN*, регуляция которого miR-21 уже показана. При помощи ПЦР и Вестерн-блот анализа были измерены относительное содержание мРНК и белка генов *ACAT1*, *ARMCX1* и *PTEN*, в качестве гена сравнения использовался *GAPDH*. Введение ДДТ снижало уровень мРНК и содержание белка исследуемых генов, причем большая доза ДДТ приводила к большему эффекту. Полученные результаты подтверждают гипотезу о том, что гены *ACAT1* и *ARMCX1* регулируются miR-21.

ACAT1 является важным ферментом в метаболизме кетоновых тел в печени. Некоторые исследования показали, что экспрессия гена *ACAT1* уменьшается при фиброзе. Интересно, что анализ морфологических изменений в печени крыс, обработанных ДДТ, показал состояние фиброза. Таким образом, именно высокая экспрессия miR-21 могла привести к таким изменениям. Причины увеличения уровня miR-21 при воздействии ДДТ остаются неизвестными и требуют дополнительных исследований.

Исследование поддержано грантом РФФИ #15-15-30012