

с биополимерными субстанциями, полученными из того же гриба, обладали существенно более выраженным антимикробным эффектом с явными видоспецифическими особенностями проявления.

Исследование характеристик и свойств субмикрокомпозигов металлов и селена, синтезированных биологическим методом, является предпосылкой вовлечения полученных данных в перспективный процесс разработки лекарственных форм и промышленных полупродуктов. Микосинтез антимикробных агентов имеет перспективу содействия решению проблемы поиска антибиотиков нового поколения.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Tsivileva O.M., Perfilova A.I.* // Current Nutrition & Food Science. 2017. Vol. 13(2). P. 82–96. Doi: 10.2174/1573401313666170117144547.
2. *Tsivileva O.M. et al.* // Biomics. 2018. Vol. 10 (2). P. 210–213. Doi: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-30.

---

## ВЛИЯНИЕ ЭКСПРЕССИИ ИЗОФОРМ Tet3 НА ХАРАКТЕР ОБРАЗОВАНИЯ МОДИФИКАЦИЙ ДНК В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК НЕК293Т

***В.К. Чмыхало<sup>1</sup>, Т.П. Шкурат<sup>1</sup>, А.А. Александрова<sup>1</sup>***

*<sup>1</sup>Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета, 344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1  
E-mail: vkchmykhalo@icloud.com; tshkurat@yandex.ru; aalexsandrova@mail.ru*

Ведущую роль в процессах активного деметилирования у млекопитающих играют представители семейства диоксигеназ Tet, открытие которых позволило сделать значительный прорыв в понимании эпигенетических механизмов регуляции экспрессии генов [1]. Каталитическая активность белков Tet заключается в последовательном окислении метильной группы у 5-метилцитозина, протекающем с формированием 5-гидроксиметилцитозин (5-гмЦ), 5-формилцитозин (5-фЦ) и 5-карбокситозин (5-каЦ). У человека и у мыши семейство белков Tet представлено тремя генами – *TET1*, *TET2* и *TET3*. Ген *TET3* кодирует и у человека, и у мыши три различные изоформы – полноразмерную Tet3FL, ооцит-специфическую Tet3OO и короткую Tet3s. Особенности вклада каждой изоформы в процессы образования окисленных производных 5-метилцитозина недостаточно изучены и требуют детального анализа для лучшего понимания процессов деметилирования у млекопитающих [2]. Поэтому целью работы стало исследование влияния экспрессии различных изоформ Tet3 на образование окисленных производных 5-метилцитозина в культуре клеток НЕК293Т.

Объектом данного исследования являлись изоформы белка Tet3 мыши. Для изучения влияния сверхэкспрессии изоформ Tet3 на характер образования модификаций ДНК в культуре клеток человека были разработаны генетические конструкции на базе вектора рMJ920T2AGFP и синтезированы методом молекулярного клонирования последовательностей независимо от лигирования In-Fusion. Полученные векторы верифицировались с помощью рестрикционного анализа и секвенирования. Культура клеток НЕК293Т подвергалась трансфекции данными векторами с использованием коммерческого набора Lipofectamine 2000. Для установления характера распределения 5-гмЦ, 5-фЦ и 5-каЦ производилось иммуноцитохимическое окрашивание трансфицированных клеток с последующим микроскопированием. Анализ изображений полученных образцов производился в ПО Zeiss и Fiji, результаты обрабатывались адекватными для характера распределения данных параметрическими и непараметрическими критериями.

Согласно результатам иммуноцитохимического исследования, в клетках линии НЕК293Т сверхэкспрессия короткой изоформы Tet3s и ооцит-специфической изоформы Tet3OO приводит к статистически значимому\* возрастанию уровня 5-гмЦ ( $p < 0,001$  и  $p = 0,001$ , соответственно). В то же время при сверхэкспрессии полноразмерной изоформы Tet3FL изменение уровня 5-гмЦ статистически незначимо (рис.).

---

\* Значимые отличия есть при уровне значимости по критерию Манна-Уитни  $< 0,001$  и  $0,042$ , соответственно.

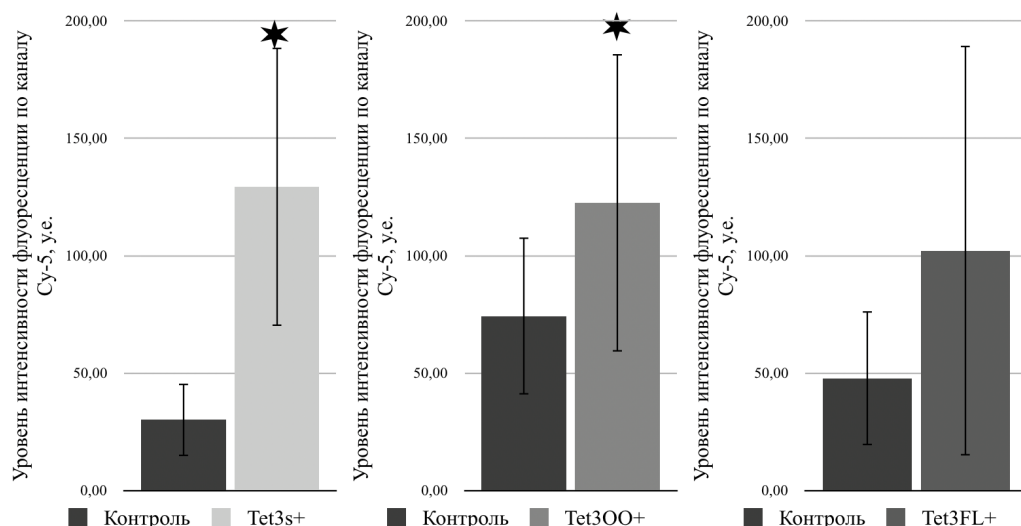


Рис. Влияние сверхэкспрессии изоформ Tet3 на уровень 5-гмЦ в клетках HEK293T

Возможно не все изоформы Tet3 способны осуществлять первую ступень окисления 5-мЦ. Детекция 5-фЦ в клетках HEK293T наблюдается при сверхэкспрессии изоформ Tet3FL и Tet3OO и не происходит при сверхэкспрессии Tet3s. Вероятно, это означает, что Tet3s имеет слабую способность распознавать и окислять 5-гмЦ до 5-фЦ. Согласно результатам микрокопирования, 5-каЦ обнаруживается во всех успешно трансфицированных клетках. Вероятно, все изоформы имеют одинаковую способность формировать 5-каЦ, и эффективность окисления 5-фЦ до 5-каЦ зависит от самого каталитического домена в структуре Tet3.

Суммируя вышеизложенное, можно говорить о том, что вклад каждой изоформы Tet3 неравнозначен на разных ступенях окисления 5-метилцитозина. Возможно таким образом функциональная дифференциация изоформ Tet3 оказывает влияние на эпигенетический ландшафт клетки и последующую экспрессию генов, являясь дополнительной ветвью регуляции состояния эпигенома у млекопитающих.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Langemeijer S.M., Aslanyan M.G., Jansen J.H. // Cell Cycle. 2009. Vol. 8. P. 4044–4048.
2. Lepikhov K., Arand J., Fuchs S. et al. // Epigenetics and Human Health. 2015. Vol.4. P. 69–99.

Работа выполнена благодаря программе Erasmus+ в университете земли Саар, Саарбрюкен, Германия, выражаем благодарность проф. Д.Е. Вальтеру и К.А. Лепихову

## 5-АЛК ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПЕРВИЧНЫХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ ГЛИАЛЬНОЙ ЭТИОЛОГИИ

**Т.В. Шамова, А.О. Ситковская, Э.Е. Росторгуев, И.В., Межевова, С.Ю. Филиппова, О.В. Нистратова, Н.С. Карнаухов, Н.С. Кузнецова**

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-линия, 63  
E-mail: tanyshamova@mail.ru