

УДК 577.24

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗРАСТ-АССОЦИИРОВАННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ УРОВНЯ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК У РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП МЫШЕЙ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ДЕПРИВАЦИИ СНА

Автор - Серикова А.С.(Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского"),

Соавторы - Кондакова Е.В., Новожилова М.О. (Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского")

Научный руководитель – д.б.н. профессор Ведунова М.В.

(Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского")

В данной работе рассматривается влияние хронической депривации сна как фактора, усугубляющего старение, а так же влияние превентивного введения нейротрофических факторов на показатели метилирования ДНК у групп мышей линии C57BL/6 разного возраста и пола.

Введение. Старение - это прогрессирующее накопление изменений в организме, ответственных за постоянно растущую восприимчивость к болезням и смерти, сопровождающее пожилой возраст. Особую актуальность изучение процессов старения приобретает в связи с увеличением продолжительности жизни. Сегодня считается, что изменение метилирования коррелирует с процессами, происходящими при старении организма. Так, с возрастом наблюдается глобальное гипометилирование ДНК по одиночным динуклеотидам CpG и гиперметилирование островков CpG.

Согласно литературным данным нарушение сна, как фактор, усугубляющий старение, может активировать нейродегенеративные процессы и ускорять старение мозга. Реакция организма на депривацию сна может различаться в разных возрастных группах. На данный момент так же ведется изучение факторов, способных защитить головной мозг и весь организм от возрастной акселерации. В связи с этим целью нашего исследования стало изучение уровня метилирования ДНК для различных групп мышей.

Основная часть. В работе была использована кровь, полученная от мышей трех групп: 15-ти полугодовалых самок, 15 годовалых самок и 15 годовалых самцов. К каждой из трех групп относились 3 интактных мыши, 3 мыши с обучением в водном лабиринте Морриса, 3 мыши с хронической депривацией сна и по три мыши с превентивным введением нейротрофических факторов BDNF и GDNF соответственно.

Исследование показателей метилирования ДНК мышей проводили с использованием метода «ДНК-комет» с оценкой уровня метилирования. В основе метода лежит проведение электрофореза единичных клеток в нейтральном буфере (35 минут, 400мА, 30В; без доступа света), предварительно кровь животных была нанесена на гель-слайды с подложкой из тугоплавкой агарозы и клетки были лизированы (16 часов, темнота, температура +4°C). Для оценки уровня метилирования ДНК гель-слайды обрабатывали чувствительной к метилированию внутреннего цитозина в последовательности CCGG рестриктазу Hpa II и не чувствительной к этому типу метилирования рестриктазу Msp I (New England Biolabs, Великобритания). Далее треки ДНК визуализировали с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа ZEISS LSM 800 с красителем 4',6-диамино-2-фенилиндолом (DAPI). После «ДНК-кометы» анализировали с использованием компьютерной программы

CometScore, в которой измерялись длины хвостов «ДНК-комет». Далее считали значения метилирования для каждой мыши изучаемых групп.

В результате был сделан вывод, что реакции организма на депривацию сна могут сильно отличаться в разных возрастных и половых группах: показатели метилирования при депривации сна возрастают от молодого поколения самок к более взрослому, а у годовалых самцов они выше, чем у обеих групп с самками. Применение нейротрофического фактора BDNF привело к значительному увеличению показателей метилирования у шестимесячных самок и к незначительному увеличению показателей метилирования у самцов 12-ти месяцев соответственно, применение GDNF привело к повышению уровня метилирования у самок возраста 6 месяцев и годовалых самцов.

Выводы. По итогам работы были получены достоверно значимые различия ($p < 0,05$) между группами мышей линии C57BL/6. Проведенные исследования показали, что хроническая депривация сна приводит к значимому снижению уровня метилирования у животных, а применение нейротрофических факторов способно снизить эффекты, вызываемые хронической депривацией сна.

Серикова А.С. (автор)

Подпись

Ведунова М.В. (научный руководитель)

Подпись