

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-255

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТИЛ-ЗАВИСИМЫХ РЕСТРИКТАЗ ДЛЯ АНАЛИЗА
МЕТИЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРНЫХ УЧАСТКОВ ГЕНОВ,
СВЯЗАННЫХ С ПАТОГЕНЕЗОМ СИНДРОМА АЛЬЦГЕЙМЕРА**

**METHYLATION-DEPENDENT RESTRICTION ENDONUCLEASES
FOR THE ANALYSIS OF METHYLATION IN PROMOTER REGIONS OF GENES ASSOCIATED
WITH THE PATHOGENESIS OF ALZHEIMER'S SYNDROME**

В. Г. Мартюшова, А. М. Тимофеева, С. Е. Седых

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск
Новосибирский государственный университет*

V. G. Martyushova, A. M. Timofeeva, S. E. Sedykh

*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk
Novosibirsk State University*

✉ vladislavamartyusova@gmail.com

Аннотация

Метилирование ДНК играет важную роль в эпигенетическом наследовании. Показано, что метилирование промоторных участков генов, связанных с патогенезом болезни Альцгеймера, изменяется в ходе развития заболевания. В данной работе для анализа этого процесса использована метил-зависимая эндонуклеаза рестрикции и количественная ПЦР.

Abstract

DNA methylation plays an important role in epigenetic inheritance. Methylation of promoter regions of genes associated with the pathogenesis of Alzheimer's disease has been shown to change during the development of the disease. In this work, a methylation-dependent restriction endonuclease and qPCR were used to analyse this process.

Метилирование ДНК является одним из наиболее подробно изученных механизмов эпигенетической наследственности. Известно, что метилирование промоторных участков определенных генов может значительно различаться в норме и при болезни Альцгеймера, а также других нейродегенеративных и аутоиммунных патологиях. В данной работе использовали одну из известных мышиных моделей болезни Альцгеймера.

Для анализа локус-специфического метилирования использовали метил-зависимую рестриктазу Gla I (Сибэнзайм) и количественную полимеразную цепную реакцию. Данная рестриктаза узнает сайт R(5mC)↑GY / YG↓(5mC)R.

В базе данных Ensembl выбрали дифференциально метилированные области промоторов нескольких генов, содержащие метилирования, к выявленным областям подобрали праймеры. Геномную ДНК, выделенную из различных участков головного мозга контрольных и экспериментальных животных, обрабатывали Gla I и проводили ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени. Положительный сигнал ПЦР свидетельствует об отсутствии метилирования на исследуемом участке ДНК, поскольку в этом случае не происходит гидролиза ДНК на участке между парами праймеров.

Данный подход позволяет определить наличие или отсутствие сайтов метилирования без использования секвенирования, в две стадии. Сравнение метилирования промоторных участков генов, связанных с патогенезом болезни Альцгеймера, позволяет оценить их вклад в развитие данной нейродегенеративной патологии.