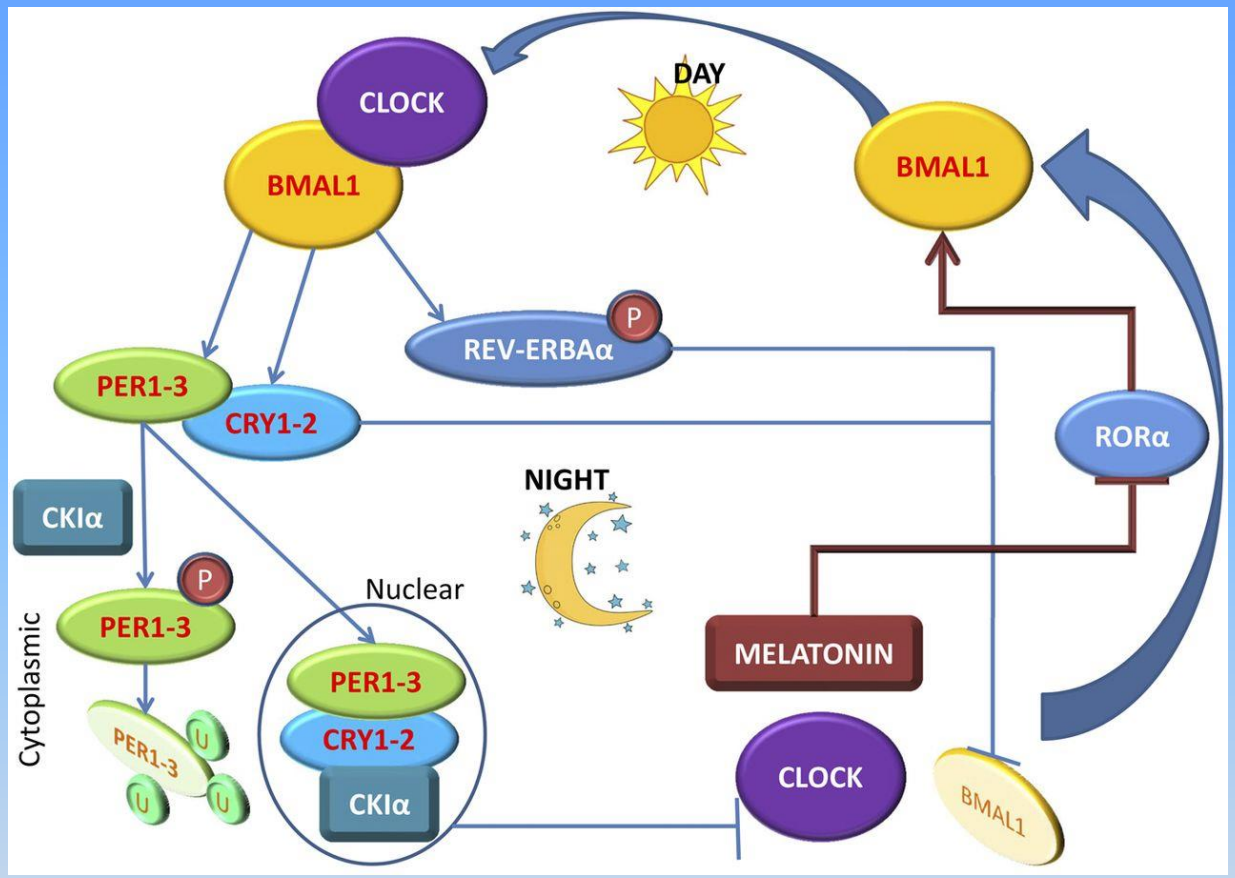
Федеральное медико-биологическое агентство
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства»
(ФГБУН ИТ ФМБА России)

Роль определения экспрессии специфических белков в токсикологических и фармакологических исследованиях

Бажанова Е.Д., Гайкова О.Н., Литовченко А.В.,
Беляева М.М., Бебко В.В.

Лаборатория морфологии и электронной микроскопии

РИТМ



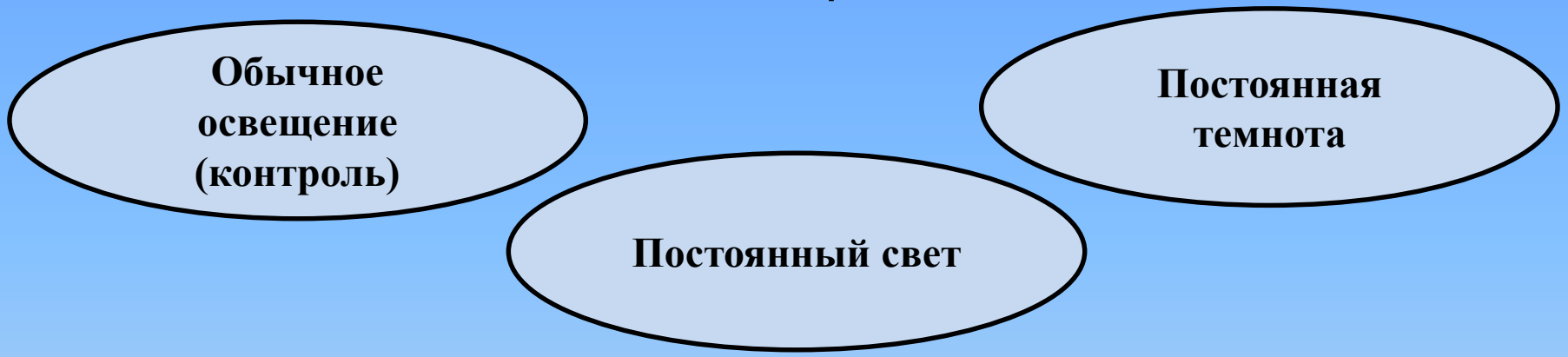
P - фосфорилирование белка, U - убиквитинирование белка

Kiss et al., 2016

РИТМ

Цель работы - изучить механизмы развития десинхроноза

Схема эксперимента



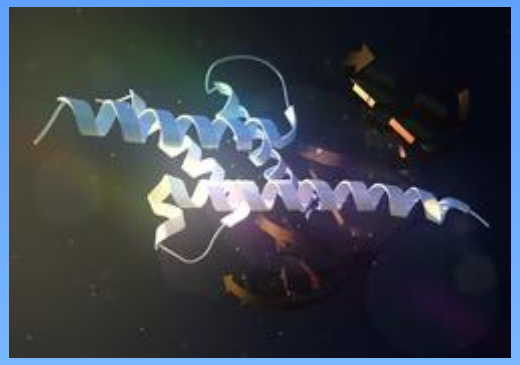
Длительность эксперимента – 1 месяц.
Контроль (обычное освещение) 13:11 темнота : свет,
свет включался в 8.30 ч утра по местному времени и выключался в 19.30 ч по местному времени

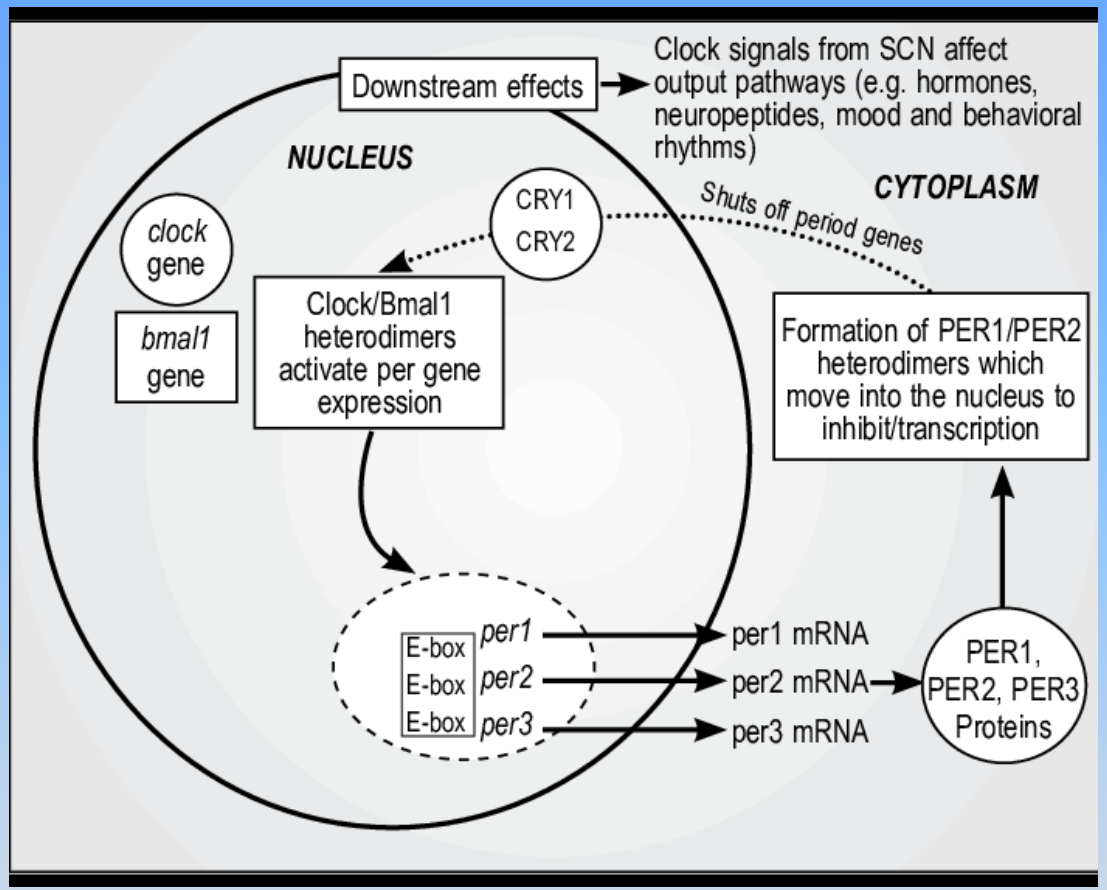
Средняя освещенность на уровне клеток с животными 500 лк белый свет.

Экспериментальные животные – половозрелые крысы-самцы Вистар

Материал для исследования – супрахиазматическое ядро гипоталамуса, Western blotting с антителами к Clock (Rabbit polyclonal, Abcam), THRA (Goat polyclonal, St John's Laboratory), Actin (Mouse monoclonal, Abcam), денситометрия (ImageJ); плазма крови, определение уровня глюкозы (глюкооксидазный метод)

РИТМ

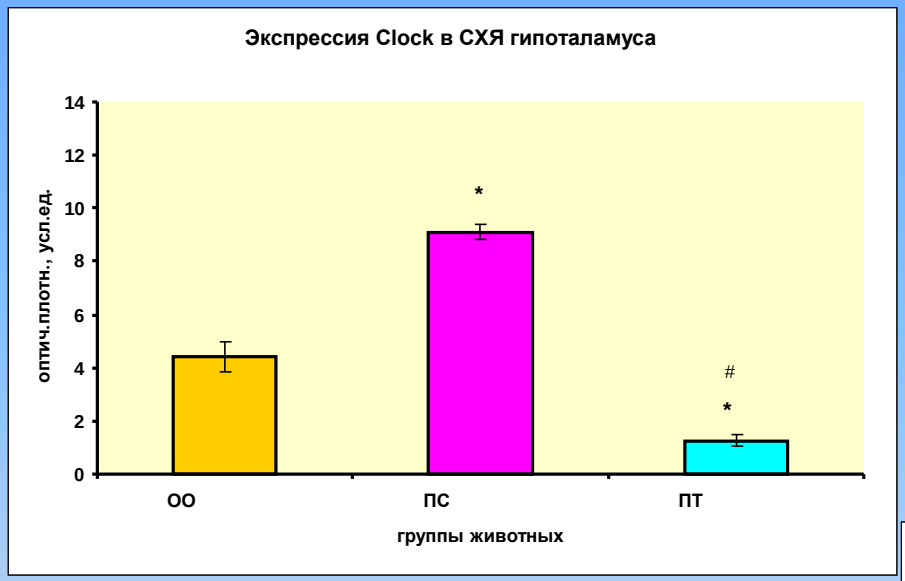




Цикл обратной связи Clock в СХЯ млекопитающих

Bunney et al., 2000

РИТМ Результаты. Экспрессия гена Clock в супрахиазматическом ядре и уровень глюкозы в плазме крови крыс



CLOCK

↓

Period, Cryptochrome

↓

Двигательная активность, поведение, обмен веществ

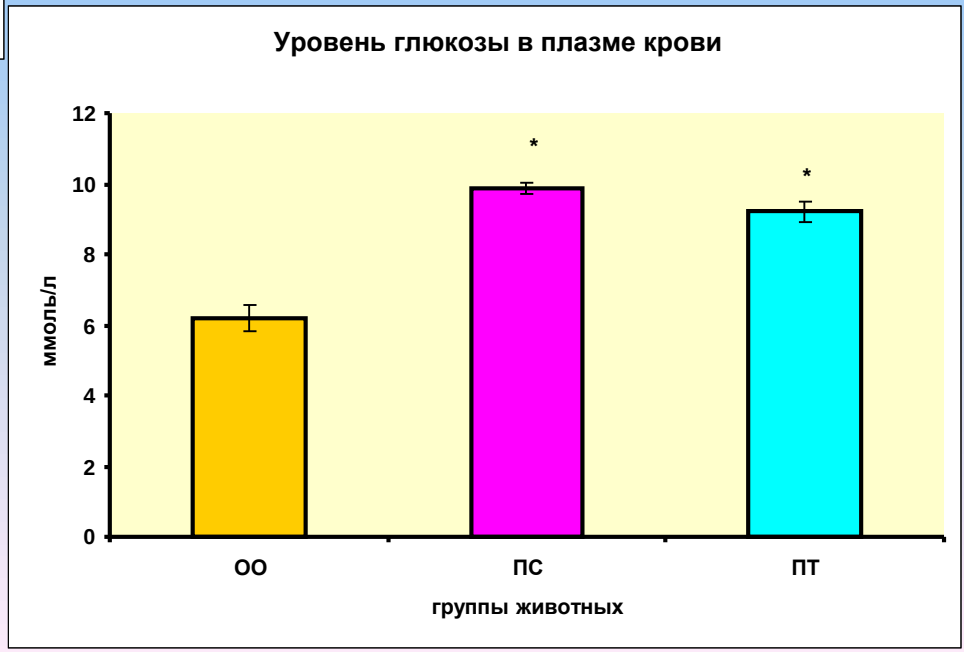
↓

Нарушение метаболизма

ОО - контроль, обычное освещение

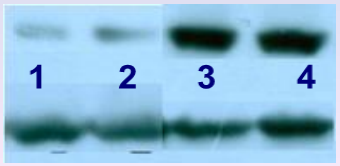
ПС - постоянный свет

ПТ - постоянная темнота



* - достоверность различий между группой ОО и ПС, ОО и ПТ

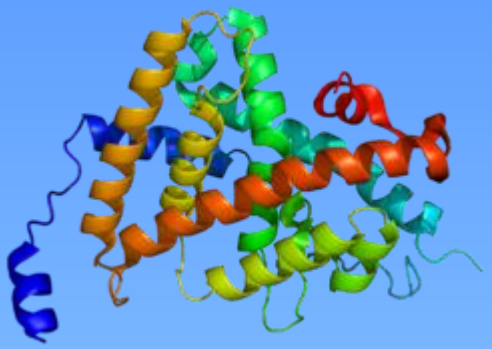
\# - достоверность различий между группами ПС и ПТ

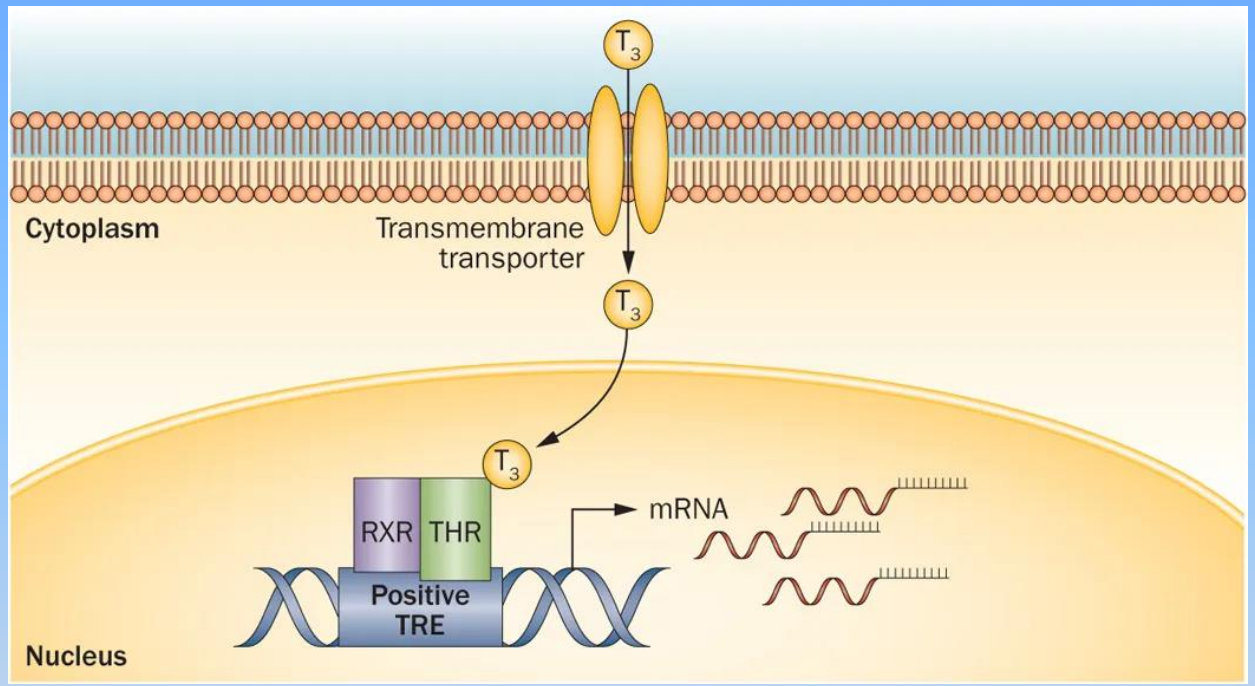


Clock 1,2 - экспрессия белка CLOCK в группе ПТ, контроль

Tubulin 3,4 - экспрессия белка CLOCK в группе ПС, контроль

РИТМ



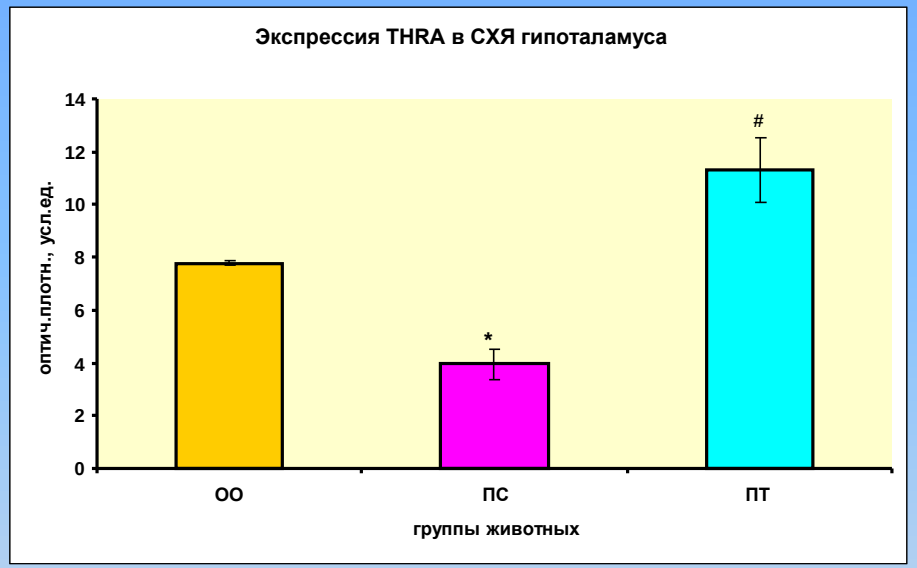


Рецепторы гормонов щитовидной железы и устойчивость к нарушениям гормонов щитовидной железы. Т3 проникает в клетку через транспортеры гормонов щитовидной железы или генерируется локально цитоплазматическими дейодиназами (не показаны). В ядре Т3 связывается с THR-содержащими димерами, которые связываются с геномными TRE для регуляции транскрипции генов. Сокращения: RXR, рецептор ретиноевой кислоты; THR, рецептор гормонов щитовидной железы; TRE, гормон щитовидной железы, чувствительный элемент.

Ortiga-Carvalho et al., 2014

РИТМ

Результаты. Экспрессия гена THRA в супрахиазматическом ядре крыс



ОО - контроль, обычное освещение

ПС - постоянный свет

ПТ - постоянная темнота

1,2 - экспрессия белка THRA в группе обычного освещения, контроль

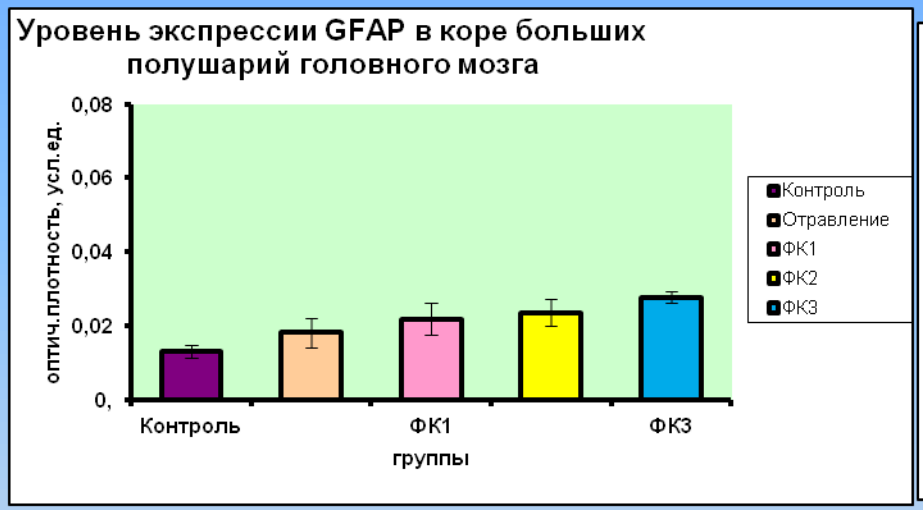
3,4 - экспрессия белка THRA в группе ПТ, контроль

* - достоверность различий между группой ОО и ПС, ОО и ПТ

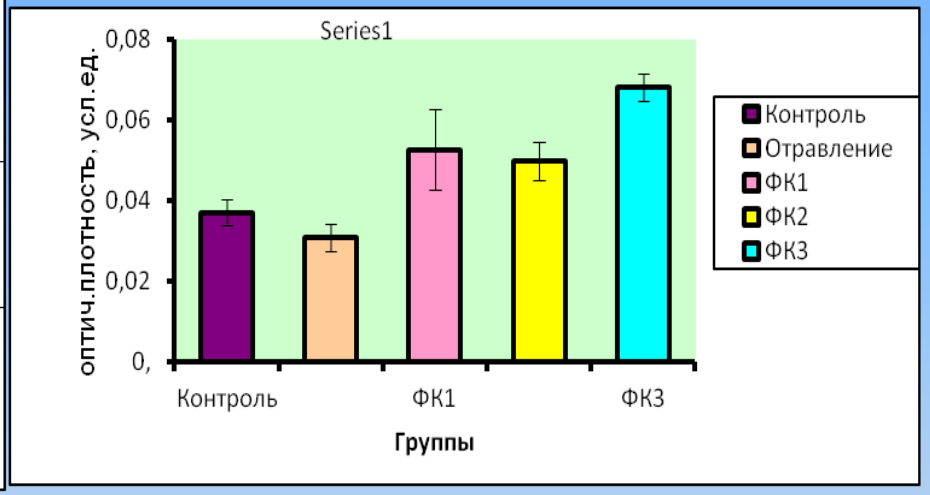
- достоверность различий между группами ПС и ПТ

ПОИСК-15 РЕЗУЛЬТАТЫ

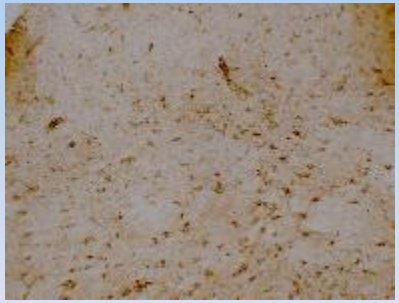
ЭКСПРЕССИЯ GFAP В КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ГИППОКАМПЕ У КРЫС
(Иммуногистохимия)



Уровень экспрессии GFAP гиппокампе



Кора, контроль, х400



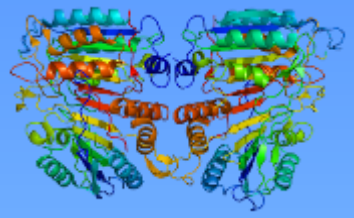
Кора, ФК 3, х400

Гиппокамп, контроль, х400

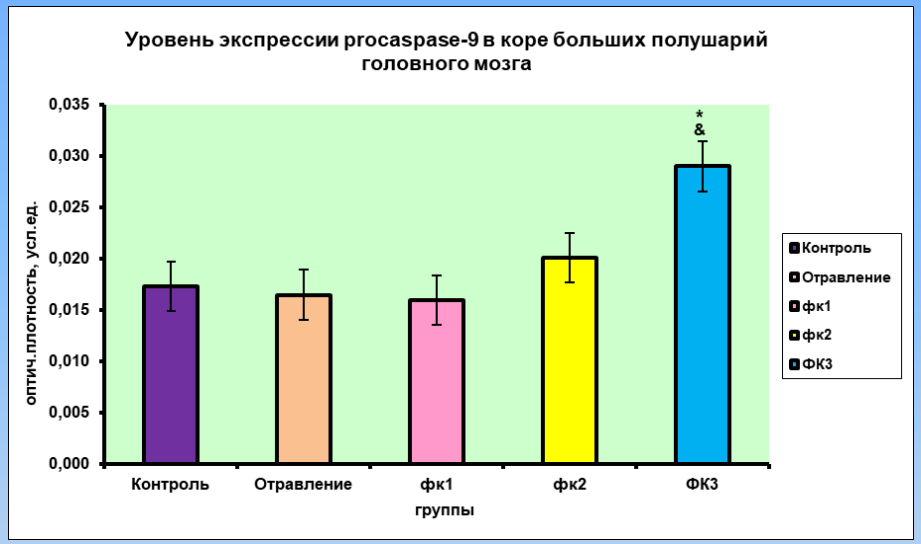
Гиппокамп, ФК 3, х400

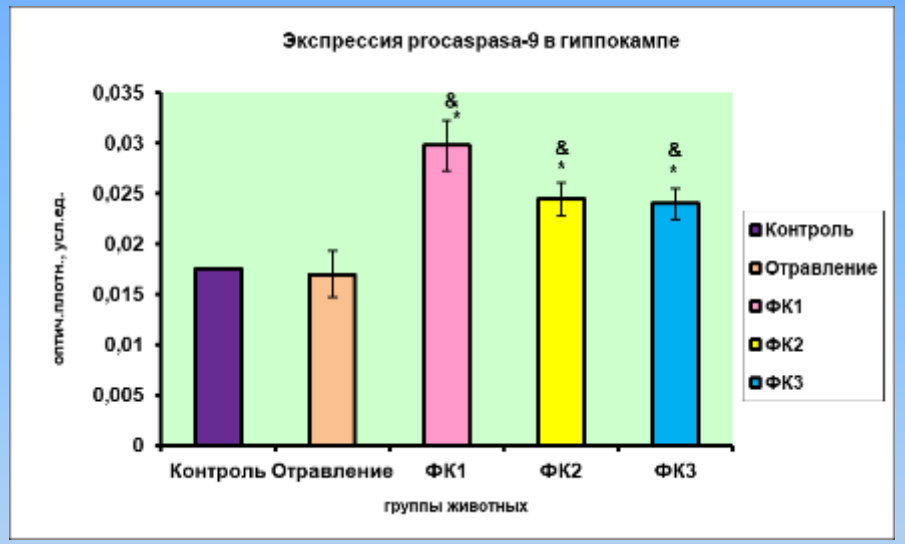
Глиальный фибриллярный кислый белок представляет собой белок промежуточной нити, который содержится в глиальных клетках, таких как астроциты. В ЦНС после повреждения (травма, заболевание, генетическое нарушение, химический инсульт) часто развивается астроглиоз, при этом синтез GFAP в нервной ткани повышается.

ПОИСК-15 РЕЗУЛЬТАТЫ



ЭКСПРЕССИЯ PROCASPASE 9 В КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ГИППОКАМПЕ У КРЫС
(Иммуногистохимия)





Кора, контроль, х400

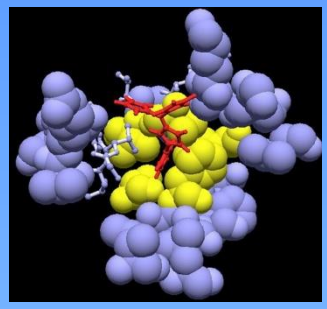
Кора, ФК 3, х400

Гиппокамп, контроль, х400

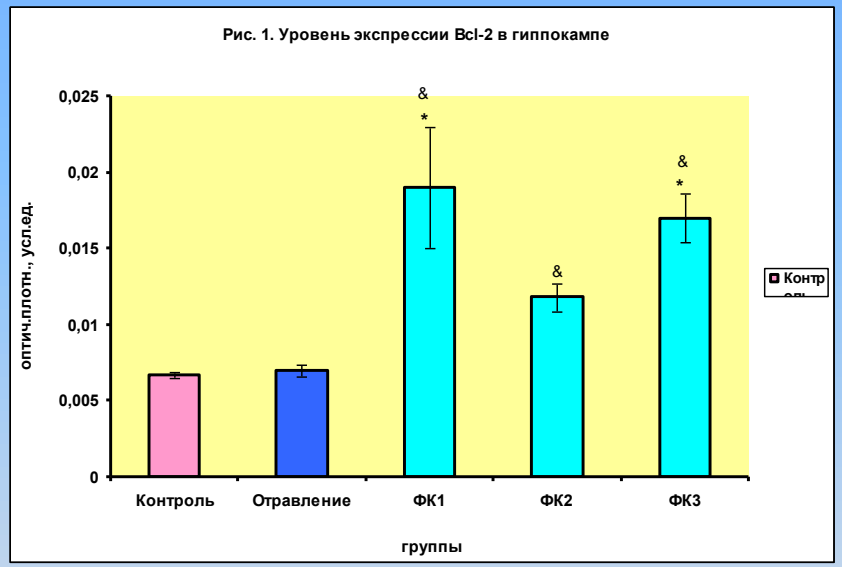
Гиппокамп, ФК 3, х400

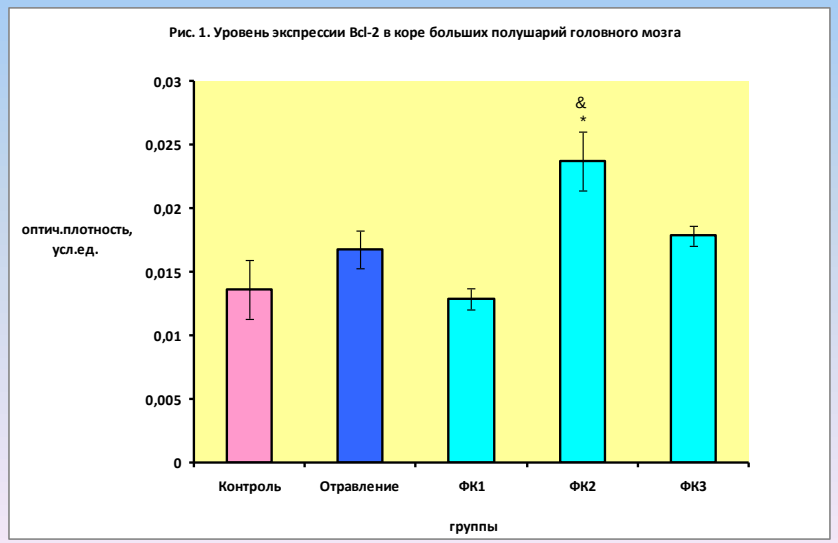
Caspase 9 – инициирующий компонент в развитии апоптоза, связанный с митохондриями. Стимулом запуска Caspase 9 является освобождаемый из митохондрий цитохром С, последовательно активирующий белок Apaf1, который в свою очередь активирует инициирующую Caspase 9. В процессе активации Caspase 9 высвобождается модуль CARD, который повышает экспрессию фактора транскрипции NF-kB и генов, кодирующих антиапоптозные белки.

ПОИСК-15 РЕЗУЛЬТАТЫ



Экспрессия Bcl-2 в гиппокампе и коре головного мозга крыс контрольной и экспериментальной групп





ФК1 – фармакокоррекция, 1 группа (1 препарат);
ФК2 - фармакокоррекция, 2 группа (2 препарат);
ФК3 - фармакокоррекция, 3 группа (3 препарат);
* - достоверность различий по отношению к контролю, & - достоверность различий по отношению к группе отравления.

Спасибо за внимание!