

# Epigenetics



YY Chien  
2020 July

# Что такое эпигенетика?

- Модификации ДНК, не меняющие её последовательности, могут влиять на активность генов. Химические соединения, которые добавляются к отдельным генам, могут регулировать их активность; такие модификации известны как эпигенетические изменения. Эпигеном – это все химические соединения, которые когда-либо добавлялись ко всей ДНК (геному) в целях регулирования активности (экспрессии) всех генов в составе генома. Эпигенетические модификации сохраняются при делении клеток и в некоторых случаях могут наследоваться из поколения в поколение. Факторы внешней среды, такие как рацион питания человека и загрязняющие факторы, также могут влиять на эпигеном.
- Эпигенетические модификации могут помочь определить, работают гены или нет, а также могут влиять на продукцию белков в определённых клетках, гарантируя, что будут произведены только необходимые белки. Например, белки, стимулирующие рост костей, не производятся в мышечных клетках. Паттерны эпигенетической модификации различаются от человека к человеку, от ткани к ткани человека и даже в отдельных клетках.

# HMGB1

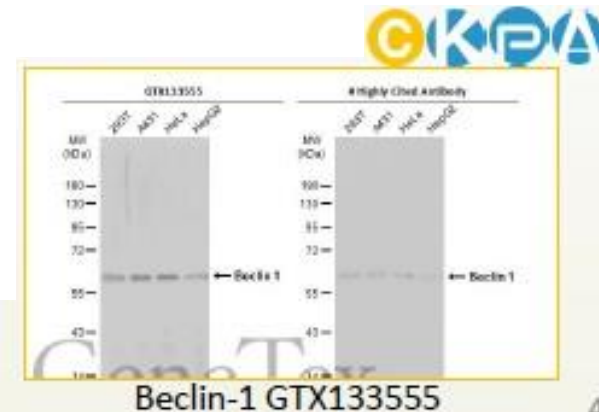
- Эукариотическая ДНК сильно компактизована и упакована в ядро для выполнения своих ключевых функций. Такая компактизация достигается с помощью **гистонов**. Кроме гистонов, существует группа негистоновых архитектурных белков **суперсемейства НМГ**, которые связываются с ДНК неспецифично, вне зависимости от её последовательности.
- Эпигенетические противораковые агенты вызывают высвобождение *in vivo* **HMGB1**, о чём сообщается в Oncoimmunology (2018). *Системный поиск противораковых агентов, например, эпигенетических модификаторов, в частности azacitidine, decitabine и гидроксамовая кислота suberoylanilide (SAHA), которые могут вызывать высвобождение белка high mobility group box 1 (HMGB1) из клеток в межклеточное пространство*

# HMGB1 (High Mobility Group Box 1)

- Семейство HMGB представлено четырьмя белками HMGB1-HMGB4, с гомологией последовательностей более 80%; в то время как HMGB1-3 содержат все три домена, у HMGB4 отсутствует кислотный хвост на С-конце.



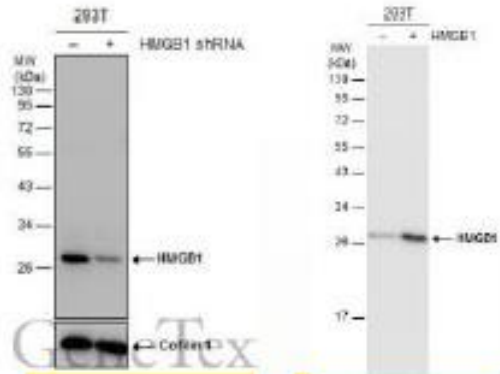
- Свое имя эти белки получили благодаря их высокой мобильности в полиакриламидном геле. Это многофункциональные, многочисленные и в избытке экспрессирующиеся негистоновые хромосомные белки.
- Ключевая функция:
  - ✓ Управляют **репарацией ДНК** и ремоделированием хроматина
  - ✓ Могут функционировать как цитокины и вызывать различные иммунологические реакции
  - ✓ Их регуляция нарушена при некоторых видах рака, они связаны с аутоиммунными нарушениями, что делает их привлекательной целью для терапии. Связаны с миграцией раковых клеток
  - ✓ **Аутофагия** (с Beclin-1)



# Чего мы добились-Антитела к HMGB1

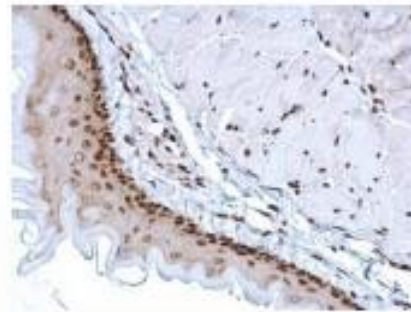
**GTX101277 rabbit pAb**

Protein Overexpression  
KO/KD Validation



Knockdown Test

Overexpression

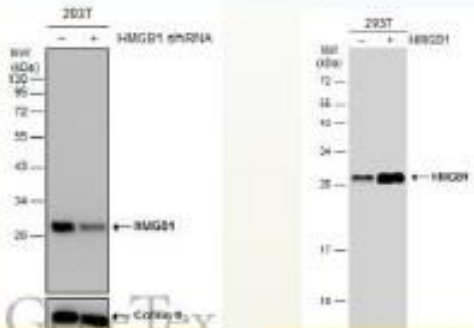


1:1000

- 1 x кроличье пАТ, 1 x мышинное мАТ, 1 x zfish hmgb1
- Тест при выключенном гене (нокдаун)
- Подтверждение оверэкспрессией
- Для ВБ, ИЦХ/ИФ, ИГХ-П, ИГХ замороз.
- Высокая цитируемость: GTX101277

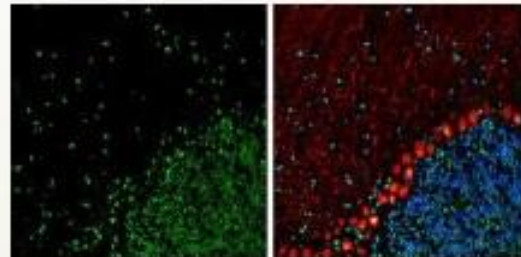
**GTX628834 mouse mAb**

Protein Overexpression  
KO/KD Validation



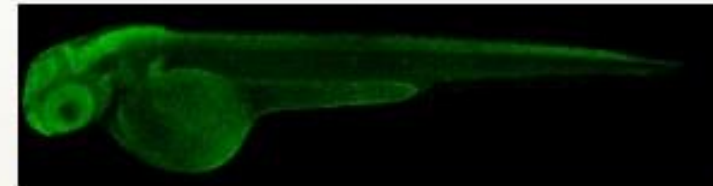
Knockdown Test

Overexpression



1:250

**GTX124486 zfish hmgb1**



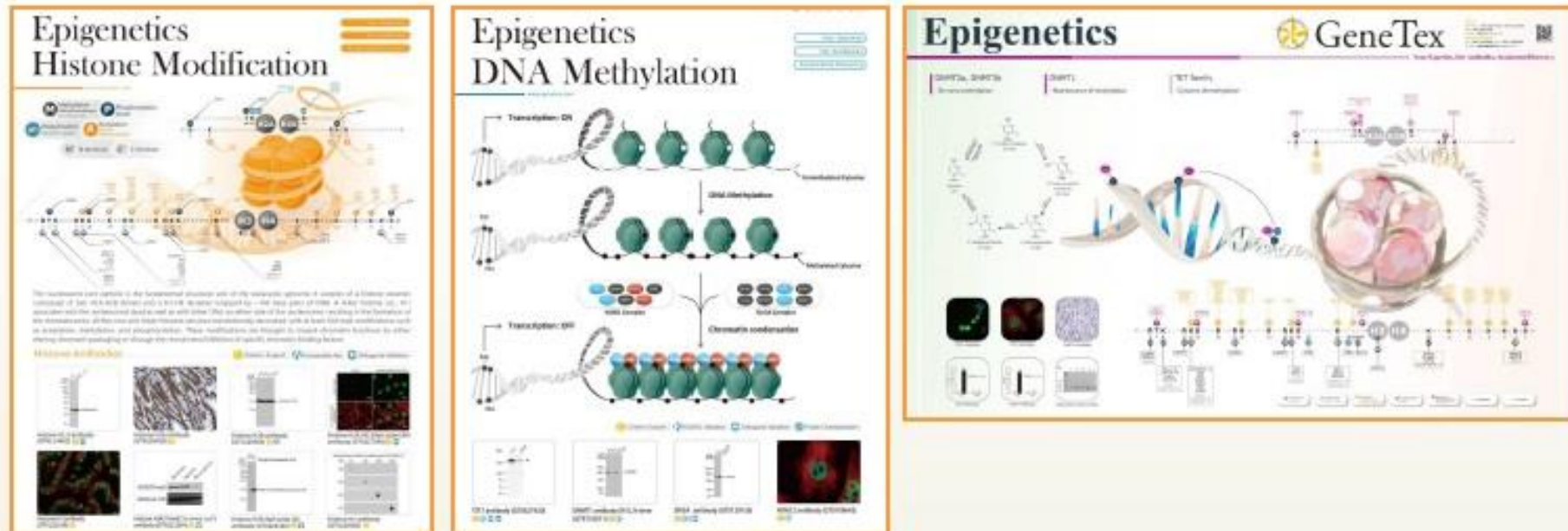
ИГХ тотального препарата

# Почему эпигенетика так важна?

- Многие из этих эпигенетических факторов действуют совместно для координирования основных клеточных программ – от процессов развития до каскадов клеточной гибели. Дисфункция любого из этих факторов может расстроить генетическую регуляцию, нарушив течение клеточных процессов, результатом чего являются такие заболевания, как рак, аутоиммунные нарушения, неврологические заболевания, бесплодие и многие другие.
- Модификация гистонов
- Метилирование ДНК

# Маркетинговые материалы

- 2 флаера, 1 постер, 2 тематических страницы
- [https://www.genetex.com/Research/Overview/epigenetics/dna\\_methylation](https://www.genetex.com/Research/Overview/epigenetics/dna_methylation)
- [https://www.genetex.com/Research/Overview/epigenetics/Histone\\_Modifications](https://www.genetex.com/Research/Overview/epigenetics/Histone_Modifications)



## Важная сфера применения: иммунопреципитация хроматина (ChIP)

- С ДНК связывается много различных белков, которые напрямую или опосредованно регулируют конформацию хроматина и транскрипцию генов. Выявление присутствия или отсутствия таких белков в определённых регионах или на всём протяжении генома может помочь построению целостной картины эпигенетической регуляции и дерегуляции, а также указать на участие определённых игроков и сигнальных каскадов. Мы можем изучать эти аспекты эпигенетической регуляции с помощью **иммунопреципитации хроматина (ChIP)**



GeneTex ChIP Protocol.pdf

- Иммуногистохимическое окрашивание



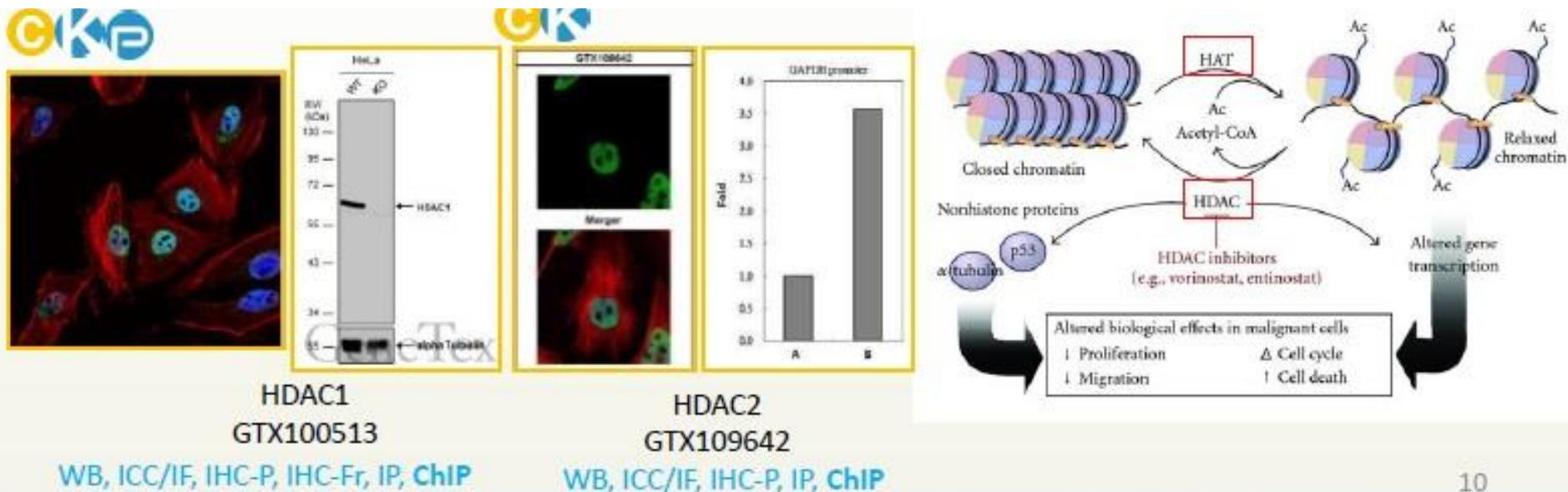
# Модификации гистонов

- Модификация гистонов – это ковалентная посттрансляционная модификация (ПТМ) гистоновых белков, включающая метилирование, фосфорилирование, ацетилирование, убиквитинирование и сумаоилирование. ПТМ, направленная на гистоны, может отрицательно сказываться на экспрессии генов, изменяя структуру хроматина или используя модификаторы гистонов. Гистоновые белки занимают упаковку ДНК, которая кольцами по восемь гистонов укладывается в хромосомы. Модификации гистонов могут действовать в различных биологических процессах, таких как транскрипционная активация/деактивация, упаковка хромосом и разрушение/ репарация ДНК. Таким образом, качественное определение различных модификаций гистонов может дать информацию, необходимую для лучшего понимания эпигенетической регуляции клеточных процессов и разработки нацеленных на ферменты препаратов, модифицирующих гистоны.



# Ацетилирование/ деацетилирование гистонов

- Ацетилирование и деацетилирование гистонов – это процессы, в ходе которых остатки лизина на N-концевом хвосте, выступающем из гистонового кора нуклеосомы, ацетируются и деацетируются.
- Ферменты ацетилирования гистонов, гистон-ацетилтрансферазы (HAT), играют ключевую роль в управлении ацетилированием гистонов H3 и H4. Были идентифицированы более 20 HAT, которые можно классифицировать на пять семейств. Ацетилирование гистона H3 может быть усилено посредством ингибирования деацетилаз гистонов (HDAC) и ослаблено посредством ингибирования HAT.
- Деацетилазы гистонов (HDAC) делятся на 4 класса. Класс I включает HDAC 1, 2, 3 и 8. Класс II делится на две подгруппы, класс IIA и класс IIB. Класс III содержит сиртуины, а класс IV содержит только HDAC11. В настоящее время ингибиторы HDAC находятся в разработке как противораковые агенты.



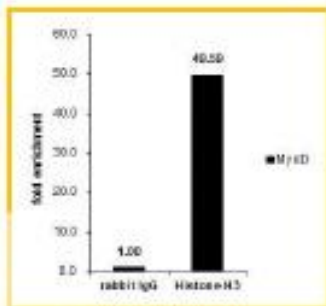
# Метилирование/ деметилирование гистонов

- Метилирование гистонов, как механизм модификации структуры хроматина, ассоциировано со стимуляцией нейронных каскадов, о которых известно, что они связаны с формированием долгосрочной памяти и с обучением (связь с нейронауками!)
- SET1, SET7/9, Ash1, ALL-1, MLL, ALR, Trx и SMYD3 являются гистон-метилтрансферазами, катализирующими метилирование гистона H3 по остатку лизина 4 (H3-K4). ESET, G9a, SUV39-h2, SETDB1, Dim-5 и Eu-гистон-метилтрансфераза являются гистон-метилтрансферазами, катализирующими метилирование гистона H3 по лизину 9 (H3-K9). G9a и такие белки группы polycomb, как EZH2, являются гистон-метилтрансферазами, катализирующими метилирование гистона H3 по лизину 27 (H3-K27).
- Также обнаружено, что повышенное общее метилирование H3-K27 характерно для некоторых патологических процессов, таких как прогрессирование рака (связь с онкологией!)



# Гистоны H3 >>>H2>H4

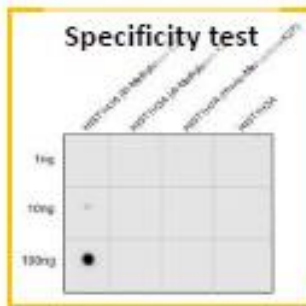
## Histone H3



Histone H3  
GTX122148

Canece Cell

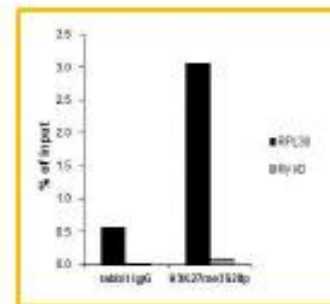
## H3 Lys27



Histone H3K27me3  
GTX121184

*Nat Commun*

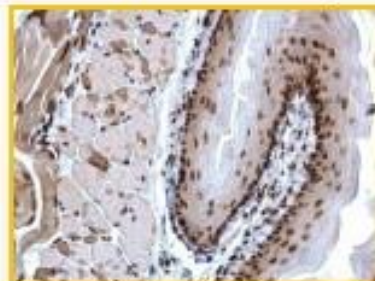
## ChIP validation



Histone H3K27ac  
GTX128944

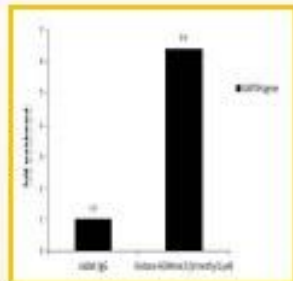
H3K27me3S28ph  
GTX60329

## H3 Lys4

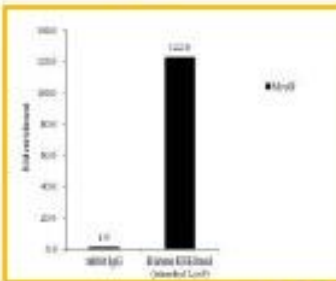


H3K4me3  
GTX128954

Blood

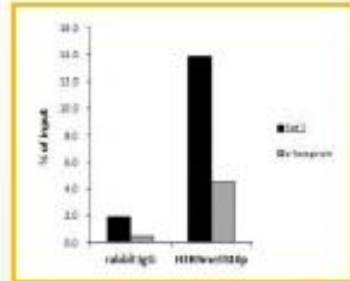


## H3 Lys9



H3K9me3  
GTX121677

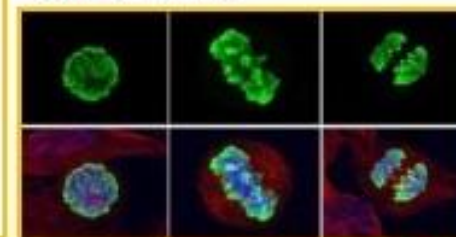
*J Am Chem Soc*



H3K9me3S10ph  
GTX60327

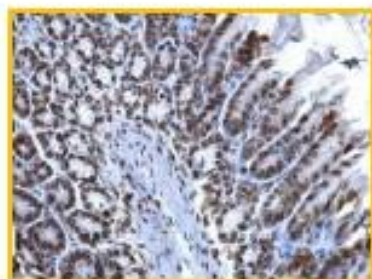
## H3 pSer10

### ChIP validation



H3S10ph (pSer10)  
GTX128116

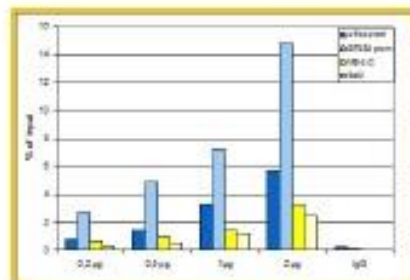
## Histone H2A.X



Histone H2A.X  
GTX108272

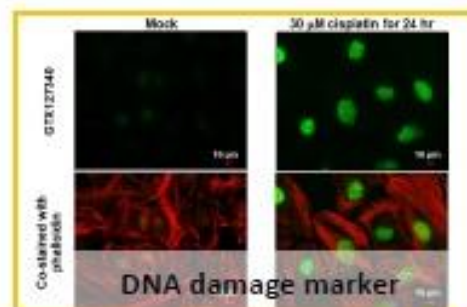
*Nat Commun*

## Histone H2A.Z



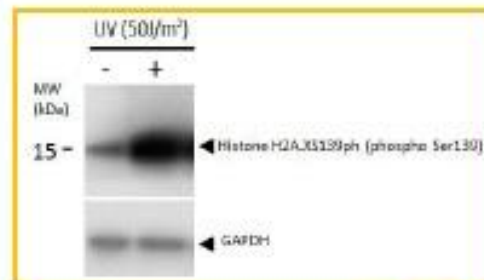
Histone H2A.Z  
GTX60812

## H2A.XS<sub>139</sub>



H2A.XS139ph  
GTX127340

*Nature*

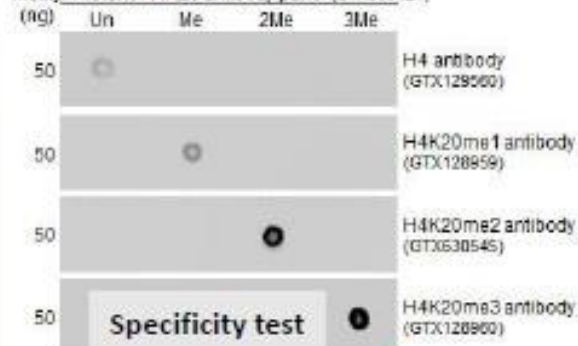


H2A.XS139ph  
GTX628789

*Cancer Res*

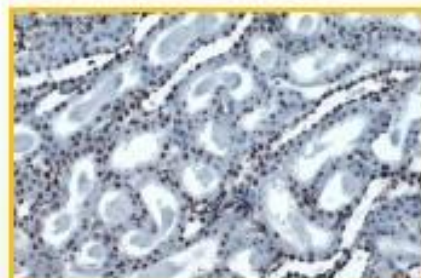
## Histone H4

Methyl-Histone H4K20 antibody panel (GTX300121)



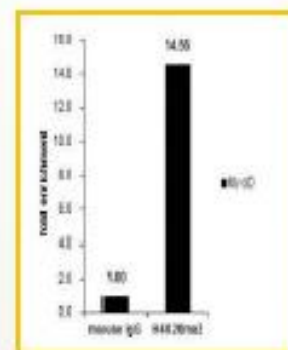
Histone H4  
GTX129560

## H4 Lys16



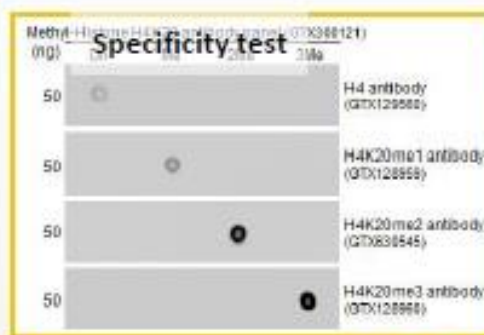
H4K16ac  
GTX632067

## H4 Lys20



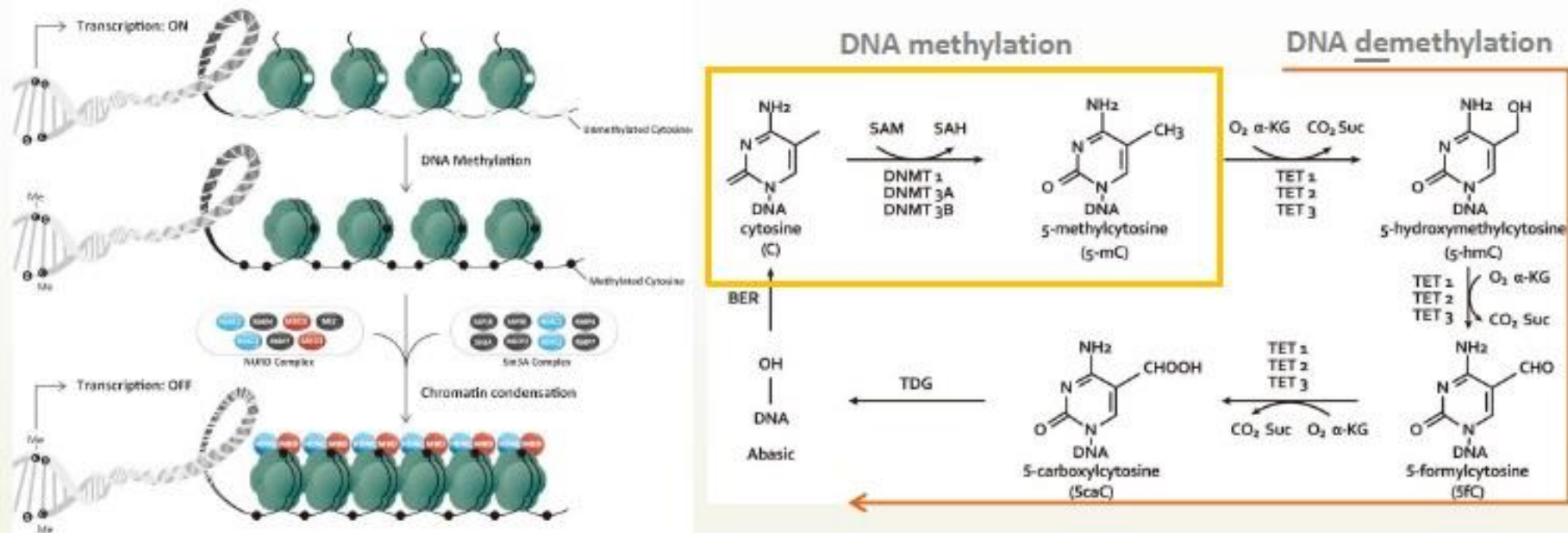
H4K20me2 (dimethyl Lys20)  
GTX630545

*Cancer Res*

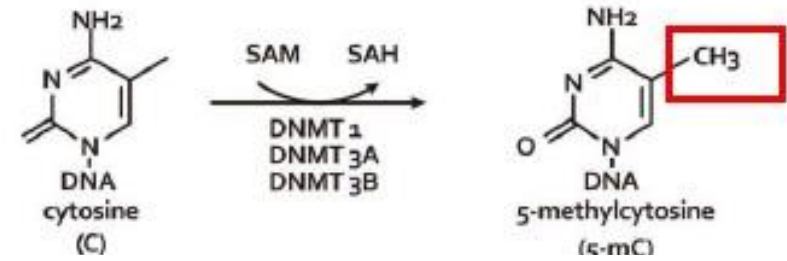


# Метилирование ДНК

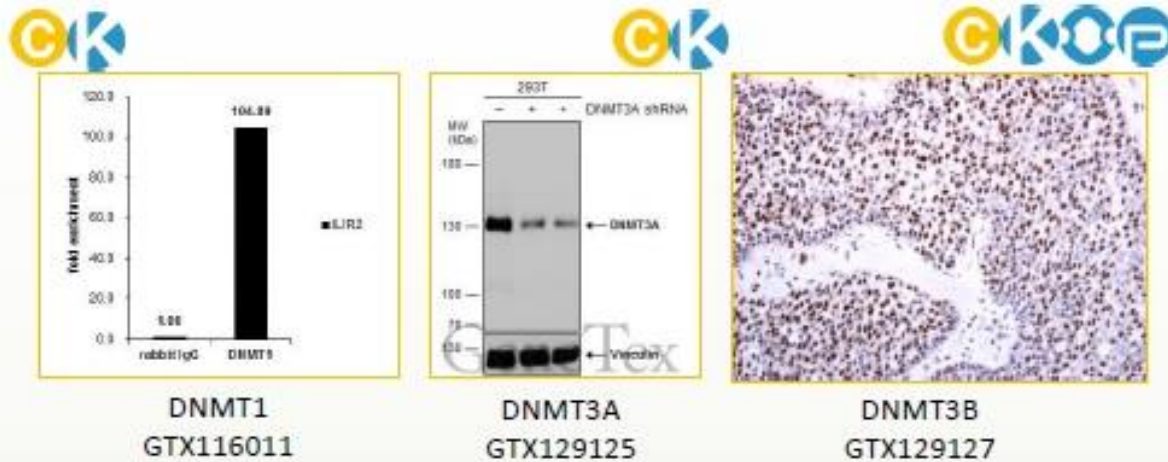
- Метилирование ДНК – эпигенетический механизм, реализующийся посредством добавления метильной группы (CH<sub>3</sub>) к ДНК и тем самым часто меняющий функцию генов и отрицательно влияющий на их экспрессию. Наиболее широко охарактеризованный процесс метилирования ДНК представляет собой ковалентное присоединение метильной группы к пятому углероду цитозинового кольца, результатом чего является 5-метилцитозин (5-mC), также неофициально известный как «пятое основание» ДНК. Эти метильные группы обращены в сторону большой бороздки ДНК и препятствуют транскрипции.



# Метилирование ДНК-DNMT



- Присоединение метильных групп контролируется на нескольких разных уровнях и осуществляется при посредстве семейства ферментов, называемых ДНК-метилтрансферазами (DNMT). Три DNMT (**DNMT1**, **DNMT3a** и **DNMT3b**) требуются для формирования и поддержания паттернов ДНК-метилирования. Дополнительные ферменты (DNMT2 и DNMT3L) также могут иметь более специализированные, но связанные с этим, функции. DNMT1, по всей вероятности, ответственна за поддержание сформированных паттернов метилирования ДНК, в то время как DNMT3a и 3b, видимо, опосредуют формирование новых или de novo паттернов метилирования ДНК.

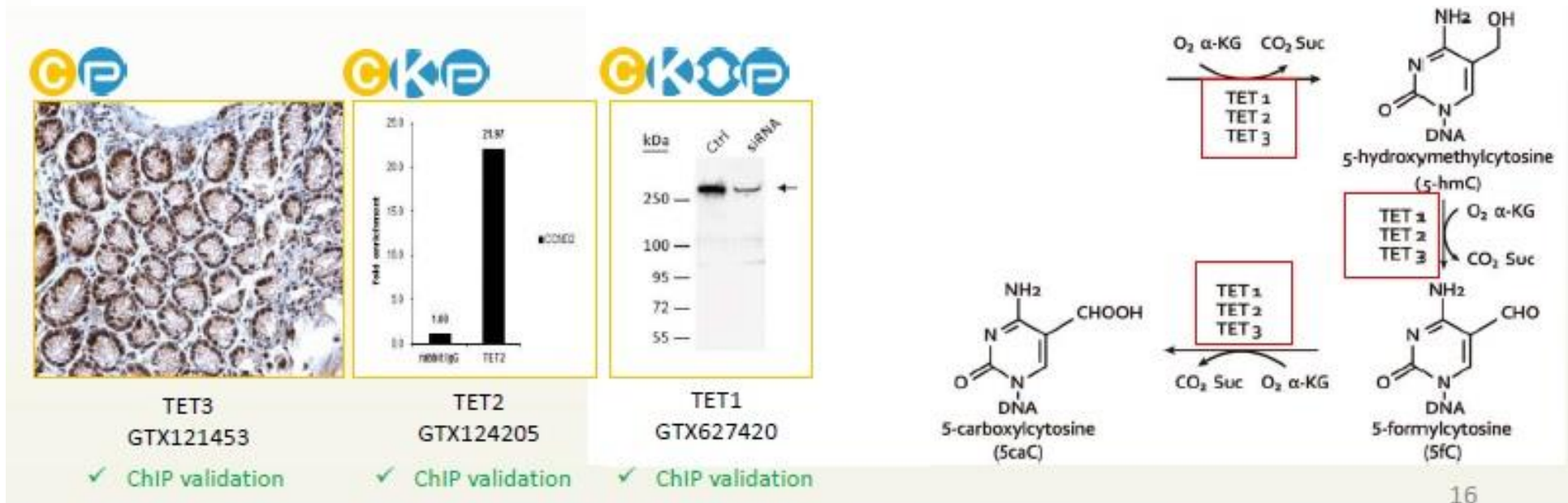


## DNMT Family Antibodies

Cat. No.	Product Name	Clonality	Reactivity	Applications
GTX116011	DNMT1 antibody [N1], N-term	Rb $\mu$ Ab	Hu	WB, ICC/IF, IHC-P, IP, ChIP assay
GTX30364	DNMT1 antibody	Rb $\mu$ Ab	Hu, Ms	WB, ICC/IF, IHC-P, IP
GTX48548	DNMT1 antibody [60B1220.1]	Ms mAb	Hu, Ms, Rat, Pig	WB, ICC/IF, IHC-P, FACS, IP, ChIP assay, MS, IHC (Free Floating)
GTX59650	DNMT2 antibody	Rb $\mu$ Ab	Hu, Ms	WB, ICC/IF
GTX129125	DNMT3A antibody	Rb $\mu$ Ab	Hu, Ms, Rat	WB, ICC/IF, IHC-P, IP, EM
GTX129126	DNMT3A antibody	Rb $\mu$ Ab	Hu, Ms, Rat	WB, IP
GTX129127	DNMT3B antibody	Rb $\mu$ Ab	Hu, Rat	WB, ICC/IF, IHC-P, IP

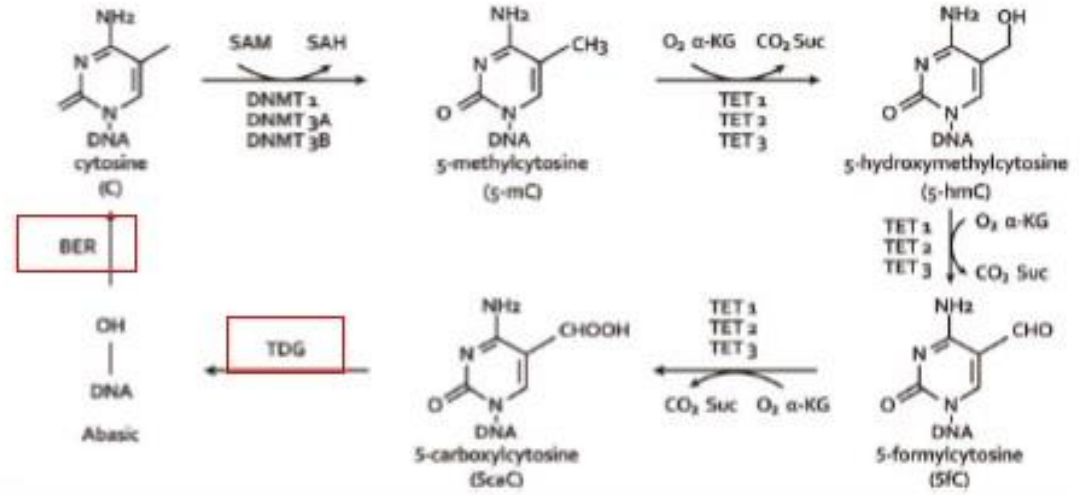
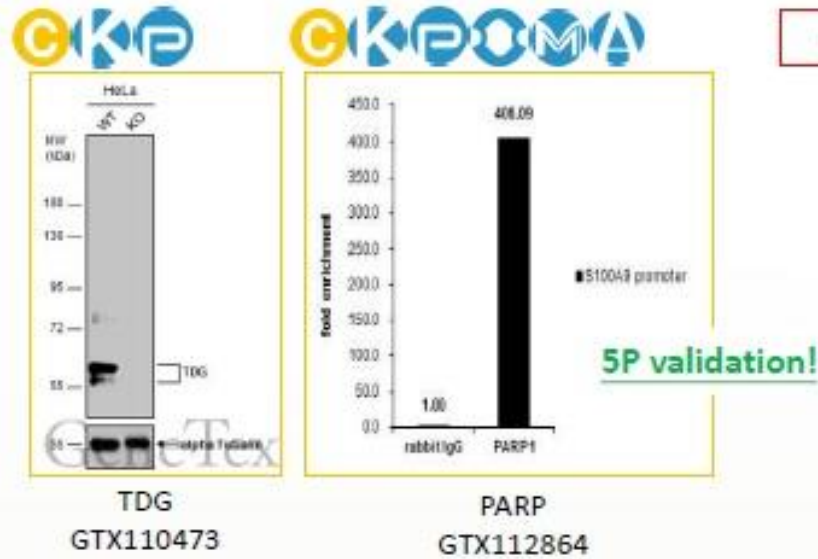
# Деметилирование ДНК-семейство ТЕТ

- Деметилирование ДНК – это удаление метильной группы из ДНК. Этот механизм так же важен, как метилирование ДНК, и сопряжён с ним. Процесс деметилирования необходим для эпигенетического репрограммирования генов, а также непосредственно вовлечён во многие важные механизмы заболеваний, такие, как прогрессирование опухолей. Активное деметилирование ДНК, в основном, происходит путём удаления 5-метилцитозина через последовательную модификацию цитозиновых оснований, которые были трансформированы в ходе окисления, опосредованного ферментом ТЕТ. Семейство 5-метилцитозин-гидроксилаз ТЕТ включает **TET1**, **TET2** и **TET3**. Эти белки могут стимулировать деметилирование ДНК путём превращения **5-метилцитозина (5-mC)** в **5-гидроксиметилцитозин (5-hmC)**, **5-гидроксиметилцитозина в 5-формилцитозин (5-fC)** и **5-формилцитозина в 5-карбиксилцитозин (5-caC)** как результат гидроксилазной активности.
- Было показано, что белки ТЕТ участвуют в транскрипционной активации и репрессии (TET1), подавлении опухолей (TET2) и процессах репрограммирования метилирования ДНК (TET3).





# Белки TDG/ BER

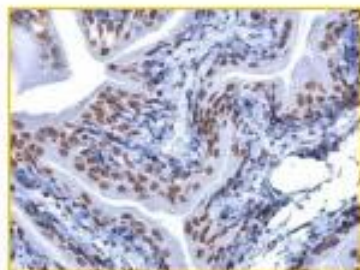
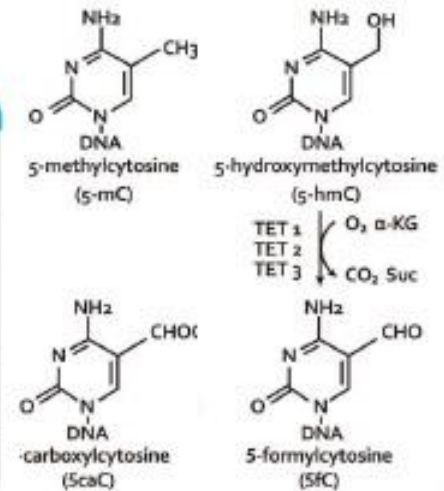


## Антитела к белкам TDG и BER

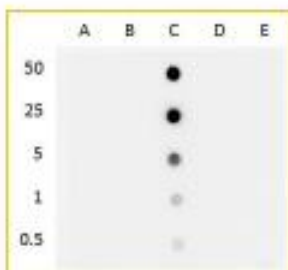
Cat. No.	Product Name	Clonality	Reactivity	Applications
GTX110558	APE1 antibody	Rb pAb	Hu, Ms, Rat	WB, ICC/IF, IHC-P, IP, ChIP assay
GTX70131	APE1 antibody [2104]	Ms mAb	Hu, Ms	WB, IHC-P, ELISA
GTX70143	DNA ligase III antibody [1F3]	Ms mAb	Hu, Ms, Chk	WB, ICC/IF, IP, Blocking, PLA
GTX103197	DNA ligase III antibody [C2C3], C-term	Rb pAb	Hu, Hm	WB, ICC/IF
GTX112864	PARP antibody [N2C1], Internal	Rb pAb	Hu, Ms, Rat	WB, ICC/IF, IHC-P, IP, ChIP assay
GTX107488	PNK antibody [N1C1]	Rb pAb	Hu	WB
GTX110473	TDG antibody	Rb pAb	Hu, Ms	WB, ICC/IF
GTX21838	XRCC1 antibody [33-2-5]	Ms mAb	Hu	ICC/IF, IHC-P
GTX111712	XRCC1 antibody [N1N3]	Rb pAb	Hu, Rat	WB, ICC/IF, IHC-P

# Антитела к цитозину

Cat. No.	Product Name	Clonality	Reactivity	Applications
GTX629448	5-Methylcytosine / 5-mC antibody [GT4111]	Ms mAb	Other	IHC-P, IHC-Fr, IHC-Wm, Dot, EM, MeDIP
GTX128455	5-Methylcytosine / 5-mC antibody	Rb pAb	Other	Dot, EM, MeDIP
GTX629765	5-Hydroxymethylcytosine / 5-hmC antibody [GT13612]	Ms mAb	Other	IHC-P, IHC-Fr, Dot, EM, MeDIP
GTX128454	5-Hydroxymethylcytosine / 5-hmC antibody	Rb pAb	Other	Dot, MeDIP
GTX60801	5-Carboxylcytosine / 5-caC antibody	Rb pAb	Other	ICC/IF, IP, Dot



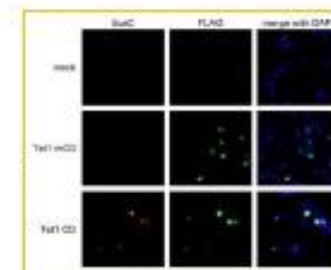
5-mC antibody  
GTX629448



5-hmC antibody  
GTX629765

## Тест на специфичность!

A: неметилированная ДНК  
 B: 5-метилцитозин  
 C: фрагмент ДНК, содержащий 5-hmC  
 D: 5-формилцитозин  
 E: 5-карбоксилцитозин

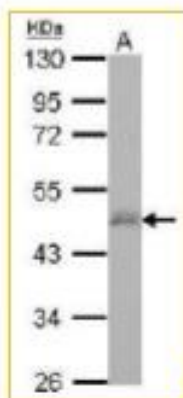


5-caC antibody  
GTX60801

[GeneTex также предлагает стандартный ДНК-набор!](#)

Cat. No.	Product Name	Item	Package	Conc.
GTX400004	Methylated Cytosine DNA Standard Kit	Cytosine DNA Standard	2 µg	50 ng/µl
		5-Methylcytosine DNA Standard	2 µg	50 ng/µl
		5-Hydroxymethylcytosine DNA Standard	2 µg	50 ng/µl
		5-Formylcytosine cytosine DNA Standard	2 µg	50 ng/µl
		5-Carboxylcytosine cytosine DNA Standard	2 µg	50 ng/µl

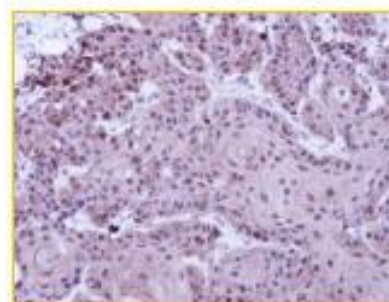
# Упоминание антител в цитируемых статьях-Эпигенетика



**CERD4 antibody**  
**GTX122249**

HRP2-DPF3a-BAF complex coordinates histone modification and chromatin remodeling to regulate myogenic gene transcription

**C** *Nucleic Acids* 2020

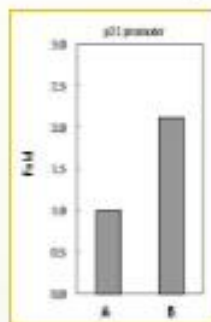


**SUV39H1 antibody**  
**GTX112263**

Histone modification markers

**C** *Communications Biology* 2020

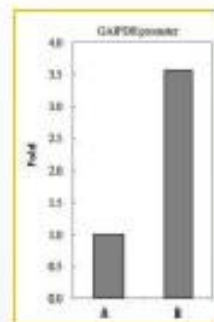
\*ChIP assay



**HDAC1 antibody**  
**GTX100513**



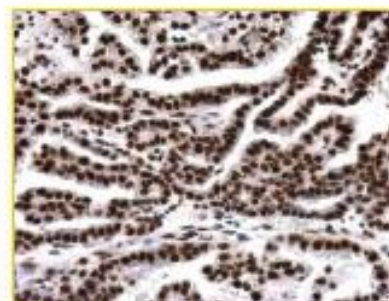
*Nature Immunology* 2020



**HDAC2 antibody**  
**GTX109642**



Histone Deacetylases markers

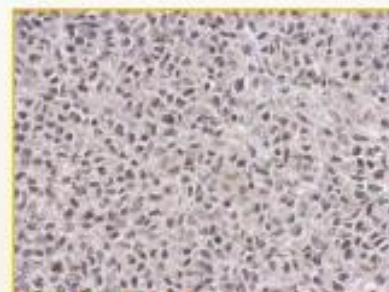


**H4K8ac (acetyl Lys8)**

**GTX633420**

Histone modification markers

**C** *Cell* 2020



**TET1 antibody**  
**[GT1462] GTX627420**

DNA demethylation marker

**C** *Nucleic Acids* 2020

## Резюме

- ✓ Большое разнообразие наших продуктов
- ✓ Качество – первый приоритет в производственной деятельности
- ✓ Многообразии сфер применения, в первую очередь – иммунопреципитация хроматина (ChIP) и иммуногистохимия парафиновых образцов (IHC-P)
- ✓ Многочисленные упоминания в цитируемых статьях

Your Expertise,  
Our Antibodies,  
Accelerated Discovery.

