**Рубцова, Мария Петровна.**

## Молекулярные механизмы биогенеза и функционирования теломеразной РНК человека : диссертация ... доктора химических наук : 02.00.10 ; 03.01.03 / Рубцова Мария Петровна; [Место защиты: Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова]. - Москва, 2019. - 147 с. : ил.

## Оглавление диссертациикандидат наук Рубцова Мария Петровна

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВВЕДЕНИЕ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1. Теломеры и теломераза

1.1.1. Теломеры. Структура и функции

1.1.2. Структура теломеразы

1.1.3. Взаимодействие теломеразы с теломерами

1.1.4. Удлинение теломер

1.2. Биогенез теломеразной РНК

1.3. Альтернативные функции теломеразной РНК

1.3.1. Теломеразная РНК в онкогенезе

1.3.2. Теломеразная РНК как регулятор экспрессии генов

1.3.3. Теломеразная РНК и защитные механизмы клетки 43 ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Используемые реактивы и буферные растворы

2.2. Методы молекулярного клонирования

2.2.1. Приготовление компетентных клеток E. coli

2.2.2. Трансформация компетентных клеток E. Coli

2.2.3. Выделение плазмидной ДНК

2.2.4. Выделение плазмидной ДНК для трансфекции эукариотических клеток

2.2.5. Разделение фрагментов ДНК в агарозном геле

2.2.6. Выделение фрагментов ДНК из агарозного геля

2.2.7. Создание генетических конструкций для получения модельных клеточных линий

2.2.8. Создание конструкций, содержащих мутации в гене теломеразной РНК человека

2.2.9. Создание конструкций для выключения экспрессии гена теломеразной РНК человека

2.2.10. Секвенирование плазмид и ПЦР-продуктов

2.3. Методы работы с культурами клеток эукариот

2.3.1. Культивирование клеток

2.3.2. Выделение геномной ДНК

2.3.3. Трансфекция клеток кальций-фосфатным методом

2.3.4. Инфекция клеток вирусными частицами

2.3.5. Сортировка клеток

2.3.6. Трансфекция клеток малыми интерферирующими РНК

2.3.7. Трансфекция клеток при помощи электропорации

2.3.8. Иммунофлуоресцентная микроскопия

2.3.9. Анализ выживаемости клеток

2.3.10. Ингибирование аутофагии

2.4. Методы работы с нуклеиновыми кислотами и белками

2.4.1. Выделение суммарной РНК, обработка ДНКазой и получение кДНК

2.4.2. ПЦР в реальном времени

2.4.3. Нозерн-блоттинг

2.4.4. Определение 3' -границы транскрипта 3' -RACE

2.4.5. Определение 5' -границы транскрипта 5' -RACE

2.4.6. Приготовление клеточных экстрактов S100

2.4.7. Иммунопреципитация RPA

2.4.8. Разделение клеточного экстракта на ядерную и цитоплазматическую фракции

2.4.9. Белковый электрофорез в ПААГ-ДСН

2.4.10. Вестерн-блоттинг

2.4.11. Определение активности теломеразы. TRAP-тест

2.4.12. Анализ длины теломер 74 2.5. Анализ сборки теломеразы

2.5.1. Разделение экстрактов ультрацентрифугированием в градиенте

концентраций сахарозы

2.5.2. Выделение РНК

2.5.3. Т7-транскрипция hTERC 75 ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Взаимодействие теломеразы с теломерами 76 3.1.1. Репликативный белок А модулирует взаимодействие теломеразы с

теломерами

3.2. Биогенез теломеразы - потенциальный объект для разработки терапевтических подходов

3.2.1. Ингибирование сборки теломеразы человека с помощью блокирования структурных элементов теломеразной РНК

3.2.2. Транскрипция и процессинг теломеразной РНК человека 94 3.2.3. Теломеразная РНК человека -- матрица для синтеза белка, обладающего защитными свойствами

3.3. Заключение 128 ВЫВОДЫ 132 СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ