



Tegniese vir die bestudering van DNS metilering: 'n Epigenetiese merk vir biodiversiteit

Authors:

Vanessa O'Neil¹
Charlene Andraos²
Tamsyn Jeffery¹
G. Koorsen¹
Liza Bornman¹

Affiliations:

¹Department of Biochemistry,
University of Johannesburg,
South Africa

²National Institute for
Occupational Health,
South Africa

Correspondence to:

Vanessa O'Neil

Email:

vanessaoneill3@gmail.com

Postal address:

PO Box 524, Auckland Park
2006, South Africa

How to cite this abstract:

O'Neil, V., Andraos, C.,
Jeffery, T., Koorsen, G. &
Bornman, L., 2012, 'Tegniese
vir die bestudering van DNS
metilering: 'n Epigenetiese
merk vir biodiversiteit',
*Suid-Afrikaanse Tydskrif
vir Natuurwetenskap en
Tegnologie* 31(1), Art.
#316, 1 page. [http://dx.doi.
org/10.4102/satnt.v31i1.316](http://dx.doi.org/10.4102/satnt.v31i1.316)

Note:

This abstract was initially
presented at the annual
Biological Sciences
Symposium, presented
under the protection of the
*Suid-Afrikaanse Akademie
vir Wetenskap en Kuns*. The
symposium was held at the
University of Johannesburg
on 01 October 2011.

© 2012. The Authors.
Licensee: AOSIS
OpenJournals. This work
is licensed under the
Creative Commons
Attribution License.

Techniques for studying DNA methylation: An epigenetic mark of biodiversity. Epigenetics is the study of heritable changes in gene expression that does not alter the underlying DNA sequence. High resolution melt analysis and enzymatic regional methylation assay are compared as techniques for the quantification of regional methylation at specific loci.

Inleiding

Epigenetika is die studie van oorerflike veranderinge in geenuitdrukking wat nie verandering in DNS basisvolgorde betrek nie en wat deur seldeling oorgedra word. Die genoom van elke sel in die mens se liggaam is identies en diversiteit in selfenotipe ontstaan deur epigenetika. Die epigenoom is dinamies en word tot 'n groot mate beïnvloed deur die omgewing. Leefwyse en omgewingsfaktore dra dus by tot die biodiversiteit van die mens deur die voortdurend veranderende epigenoom. Epigenetiese modifikasies word bewerk deur drie meganismes, DNS metilering, histoonmodifikasie en RNS regulering, wat onderling van mekaar afhanklik is. DNS metilering is een van die mees bekende epigenetiese modifikasies en behels die toevoeging van 'n metiel-groep tot die vyfde koolstof posisie op 'n sitosien ring (^{5m}S). Die reaksie word gekataliseer deur DNS metieltransferase en vind grootliks plaas op sitosien basisse gevolg deur guanien (SpG). SpGs is teenwoordig in die genoom teen gemiddeld een per 80 nukleotiede, maar 1–2% van die genoom is vyf-maal ryker aan SpG dinukleotiede. Hierdie streke staan bekend as SpG eiland(e) (SGE). 'n SGE is tipies 0.3–3 kb en kom algemeen voor in promotors areas of eerste eksone van gene. SpGs buite SGE is grootliks ongemeteleerd, terwyl dié in SGE meestal gemeteleerd is. 'n Verskeidenheid molekuler-biologiese tegnieke vir die bestudering van DNS metilering word gebruik. Die keuse van tegniek is afhanklik van fasiliteite en doelwit, byvoorbeeld of metilering op genoomwye-, steek- of lokus-spesifieke vlak bestudeer wil word.

Hipotese

Daar is geen verskil in die sensitiwiteit van hoë resolusie smeltkurwe (HRS) analise en ensiematiese streeksmetilering analise (ESMA) ten einde die bepaling van streeks-metileringspatrone nie.

Materiaal en Metodes

In die studie word die doeltreffendheid van ESMA en HRS analise vergelyk as metodes vir die analise van streeksmetilering op 'n sitosien-guanien eilande in die mens vitamien D reseptor geen.

Resultate

HRS tegniek lewer liniêre standaard kurwes met 'n regressie waarde van 0.98 en kan tot verskille van 5% in metileringspatrone onderskei, terwyl die ESMA betekenisvolle variasie oplewer by 'n metileringsdigtheid van 75% en 100%. Die laer metileringsfrekwensies by die sitosien-guanien eilande bestudeer tydens die studie lei daartoe dat beide tegnieke die suksesvolle ontleding van metileringsdigtheid teweeg bring, alhoewel HRS analise 'n beter sensitiwiteit het en nie beïnvloed word deur hoë persentasies van metilering nie.

Bespreking

HRS analise is minder intensief, veilig en omgewingsvriendelik aangesien geen radio-isotope in die tegniek gebruik word nie. Die grootste nadeel van ESMA is die onstabielheid van die SpG metieltransferase ensiem, wat moontlik die groot variasie in die standaardkurwe tussen 75% en 100% metilering teweeg bring. HRS analise is dus meer betroubaar oor 'n wye reeks metilerings persentasies en kan dus ten volle- en gedeeltelik gemeteleerde fragmente onderskei. Die nulhipotese is dus verwerp. Hoë resolusie smeltkurwe (HRS) is 'n beter keuse vir die analise van streeksmetilering as ESMA ten einde te fokus op areas van belang vir lokus-spesifieke metileringsanalise.