

Пространственная мобильность концов двуцепочечных разрывов ДНК в условиях ингибирования белков-участников репарации двуцепочечных разрывов

Научный руководитель – Рубцов Михаил Александрович

Вьюшков В.С.¹, Ломов Н.А.¹

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра молекулярной биологии, Москва, Россия

Использование противоопухолевых препаратов-ингибиторов ДНК-топоизомераз, таких как этопозид, в ряде случаев ведет к развитию вторичных лейкозов [1]. Этопозид ингибирует ДНК-топоизомеразу II, что приводит к возникновению двуцепочечных разрывов в ДНК [1], неправильная репарация которых приводит к образованию хромосомных транслокаций. При остром миелоидном лейкозе часто наблюдаются перестройки с участием гена *AML1 (RUNX1)* [5]. С помощью флуоресцентной микроскопии, а также программной обработки изображений, можно увидеть процессы, приводящие к развитию вторичных лейкозов, и сделать предположение о механизмах этих процессов. В настоящей работе исследовалось влияние белков Rad51 и Mre11, участвующих в репарации двуцепочечных разрывов ДНК [2,6], на динамику концов двуцепочечных разрывов ДНК.

Мы обрабатывали клетки суспензионной культуры иммортализованных Т-лимфоцитов Jurkat этопозидом и ингибиторами белков Rad51 (B02, [4]) или Mre11 (mirin, [3]). После фиксации клеток проводили гибридизацию с флуоресцентными зондами к концам гена *AML1*, а также зондом против всей территории 21 хромосомы, в которой в норме локализован этот ген. Препараты исследовались на конфокальном микроскопе, и полученные снимки обрабатывались компьютерной программой, детектирующей сигналы и определяющей расстояния между ними.

После обработки клеток этопозидом внутри гена *AML1* с определенной частотой образуется двуцепочечный разрыв. При этом за пределами хромосомной территории чаще локализуются концы разрывов, а не интактные аллели гена. Использование ингибитора Rad51 привело к заметному увеличению числа детектируемых разрывов, что может говорить об участии этого белка в репарации индуцированных этопозидом двуцепочечных разрывов. Ингибирование Mre11 не влияет на частоту детектируемых разрывов. Кроме того, во всех случаях сохраняется тенденция разорванных аллелей покидать территорию своей хромосомы.

Источники и литература

- 1) Azarova A.M. и др. Roles of DNA topoisomerase II isozymes in chemotherapy and secondary malignancies // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007. Т. 104. № 26. С. 11014–11019.
- 2) Baumann P., West S.C. Role of the human RAD51 protein in homologous recombination and double-stranded-break repair // Trends Biochem. Sci. 1998. Т. 23. № 7. С. 247–251.
- 3) Dupré A. и др. A forward chemical genetic screen reveals an inhibitor of the Mre11-Rad50-Nbs1 complex // Nat. Chem. Biol. 2008. Т. 4. № 2. С. 119–125.
- 4) Huang F. и др. Inhibition of homologous recombination in human cells by targeting RAD51 recombinase // J. Med. Chem. 2012. Т. 55. № 7. С. 3011–3020.

- 5) Ichikawa M. и др. A role for RUNX1 in hematopoiesis and myeloid leukemia // Int. J. Hematol. 2013. Т. 97. № 6. С. 726–734.
- 6) Stracker T.H., Petrini J.H.J. The MRE11 complex: starting from the ends // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2011. Т. 12. № 2. С. 90–103.