

Особенности кинетики репарации двуниевых разрывов ДНК у дрозофилы *in vivo*

Научный руководитель – Конев Александр Юрьевич

Украинцев Владислав Юрьевич

Аспирант

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Курчатовский институт, Москва, Россия

E-mail: vlad-ukraincev@mail.ru

Украинцев В.Ю.¹, Ильина Ю.А.^{1,2}, Конев А.Ю.^{1,2}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» - ПИЯФ

² Курчатовский геномный центр - ПИЯФ

Санкт-Петербург, Россия

<mailto:vlad-ukraincev@mail.ru>

Целостность и естественное функционирование генома обеспечивают системы исправления различных повреждений молекулы ДНК, возникающих под воздействием внешних и внутренних факторов. Наиболее опасным повреждением генома является двуниевый разрыв (ДР) ДНК. В настоящее время интерес к репарации ДНК обусловлен ее связью с канцерогенезом и необходимостью разработки направленных лекарственных препаратов. Современные методы конфокальной микроскопии и использование флуоресцентных белков позволяют визуализировать отдельные компоненты внутри живых тканей, что дает возможность проанализировать кинетику репарации ДНК *in vivo*.

На первом этапе исправления возникшего повреждения ДНК происходит маркирование повреждения. У эукариот — это хроматин-ассоциированное событие. Маркирование ДР ДНК - протяженное фосфорилирование гистона H2AX с образованием gH2AX (у дрозофилы gH2Av). К фосфорилированным участкам подходит комплекс MDC1 (mediator of DNA damage checkpoint 1; у дрозофилы - MU2). N-конец MU2 содержит домен, который взаимодействует с MRN комплексом, в то время как домен BRCT взаимодействует с вариантным гистонам H2Av, фосфорилированным по Ser137 (γ H2Av). На завершающем этапе репарации ДР ДНК необходимо устранение всех хроматиновых модификаций и восстановления предшествующей разрыву нуклеосомной плотности. Для данной работы была синтезирована линия дрозофилы, геном которой содержит маркер генетического материала - конструкцию “*h2av-rfp*” и в качестве маркера начала репарации ДР ДНК - конструкцию “*mu-2-yfp*”: после γ -облучения детектируются желтые сигналы фокусов репарации на фоне краснокрашенных ядер.

Анализ кинетики репарации ДР ДНК проводился в выделенном и сохраняющем свою жизнеспособность мозге поздней личинки дрозофилы. Принимая во внимание радиобиологические данные в тестовых экспериментах была определена доза γ -облучения - 7 Гр. При этой дозе мы фиксировали минимальное количество ядер с несколькими фокусами репарации и наибольшее количество ядер с одним. Отметим, что исчезновения сигнала в ядрах с количеством разрывов более 3 за время наблюдения (5-6 часов) не происходит. На сегодняшний день проанализировано 81 достоверно законченное репаративное событие. Для ядер с одним разрывом среднее время исчезновения одного сигнала MU-2-YFP составляет 70 минут. В случае двух и трех разрывов ДНК в одном ядре мы получили свидетельство того, что репарация выполняется одновременно во всех сайтах ядра. Для ядер с двумя разрывами на ядро среднее время исчезновения одного сигнала - 100 минут,

с тремя разрывами - 240 минут. Также сделано наблюдение о неравномерности появления сигналов *MU-2-YFP* в разных клетках мозга: сигналы появляются и исчезают только в митотически активных вторичных нейробластах [1]. Ранее это не было описано и, вероятно, указывает на специфичность репарации ДР ДНК в мозге дрозофилы.

Источники и литература

- 1) Rother M. B., van Attikum H. DNA repair goes hip-hop: SMARCA and CHD chromatin remodellers join the break dance //Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2017. – Т. 372. – №. 1731. – С. 20160285.