

**Роль каспазы-2 в регуляции гибели клеток при генотоксическом стрессе**

**Научный руководитель – Копейна Гелина Сергеевна**

***Базаревич Мария Валериевна***

*Студент (бакалавр)*

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

*E-mail: mashutkabazarevich@rambler.ru*

Каспаза-2 - инициаторная каспаза, которая активируется при стрессе эндоплазматического ретикулума, активации рецепторов смерти, повреждении ДНК, запуская процесс апоптоза. Описаны также не связанные с гибелью клеток функции данного белка: поддержание стабильности генома, регуляция клеточного цикла и аутофагии, метаболизма, реакция клеток на окислительный стресс и супрессия опухолей[4]. В нашей лаборатории показано, что клетки карциномы яичника Саov-4, дефицитные по каспазе-2, более устойчивы к индукции программируемой клеточной гибели химиотерапевтическими агентами[1, 3], а маркер повреждения ДНК -  $\gamma$ H2AX - накапливается в значительно меньшей степени по сравнению с диким типом. Анализ методом ДНК-комет не выявил различий в уровне повреждений ДНК в клетках Саov-4 с нормальным уровнем каспазы-2 и дефицитных по ней[2]. Увеличение уровня  $\gamma$ H2AX в клетке запускает сигнальные пути в клетке, контролирующие репарацию повреждений ДНК в клетке. Однако, влияет ли каспаза-2 на процесс репарации повреждений ДНК.

Мы сравнили уровень репарации и каспаза-2-зависимой гибели среди нокаутных линий и клеток дикого типа. С помощью метода CRISPR/Cas9 были получены клеточные линии HeLa, нокаутные по гену каспазы-2. Для индукции каспаза-2-зависимой ПГК производился подбор условий: по уровню активной эффекторной каспазы-3 и накоплению расщеплённой формы PARP (от англ. PolyADP-ribose polymerase) - маркёров гибели, оценивали степень гибели клеток после индукции повреждений ДНК. Для клеток с дефицитом по гену каспазы-2 наблюдали пониженное накопление данных маркёров по сравнению с линиями с нормальным уровнем каспазы-2. Для сравнения уровня маркёров гибели и ДНК повреждения ( $\gamma$ H2AX) среди линий, отличающихся уровнем каспазы-2, применялся Вестерн блот анализ и метод проточной цитофлуориметрии SubG1. Для линии HeLa, дефицитной по каспазе-2, наблюдается устойчивость к гибели, индуцированной повреждением ДНК, при этом не наблюдается репарации повреждений для линии Саov-4.

**Источники и литература**

- 1) 1. Zamaraev A.V., Egorshina A.Y., Lavrik I.N., Zhivotovsky B.D., Kopeina G.S. Isolation of high-molecular-weight activation complexes of initiator caspases in DNA damage, Bulletin of Experimental Biology and Medicine, издательство Kluwer Academic Publishers (Netherlands), 2019
- 2) 2. Kopeina GS, Zamaraev AV, Prokhorova EA, Egorshina AY, Lavrik IN, Zhivotovsky B. The role of caspase-2 in the regulation of apoptosis, necroptosis and mitotic catastrophe upon genotoxic stress in ovarian carcinoma cells, Cell Death Discovery, том 5, с. 47, 2019
- 3) 3. Zamaraev Alexey V., Kopeina Gelina S., Buchbinder Jörn H., Zhivotovsky Boris, Lavrik Inna N. Caspase-2 is a negative regulator of necroptosis, International Journal of Biochemistry and Cell Biology, издательство Pergamon Press Ltd. (United Kingdom), том 102, с. 101-108, 2018

- 4) 4. Егоршина А.Ю., Замараев А.В., Лаврик И.Н., Животовский Б.Д., Копейна Г.С. Каспаза-2 – онкосупрессор и регулятор метаболизма: что день грядущий нам готовит? Молекулярная биология, том 52, № 5, с. 1-14, 2018