

Механизмы регуляции экспрессии гена *RAD52* в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae*

Научный руководитель – Карпов Дмитрий Сергеевич

Надолинская Нонна Игоревна

Студент (магистр)

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

E-mail: nioriss@gmail.com

На клетку действуют различные факторы повреждения ДНК. Системы репарации своевременно устраняют их, предотвращая нарушения метаболизма и злокачественное перерождение клеток. В ходе репарации ДНК могут активироваться транскрипционные программы адаптации к действию ДНК-повреждающих факторов.

Rpn4 - главный регулятор экспрессии генов 26S протеасомы у *Saccharomyces cerevisiae* [1, 2]. Он также регулирует гены путей репарации, ферментов биосинтеза нуклеотидов и, видимо, участвует в транскрипционных программах, активируемых при клеточном ответе на повреждение ДНК.

В нашей лаборатории был получен мутантный штамм дрожжей YPL со сниженной протеолитической регуляцией протеасом вследствие нарушения Rpn4-зависимой регуляции гена *PRE1* [3]. Установлено, что он обладает повышенной устойчивостью к соединениям, повреждающим ДНК, например, к 4-нитрохиолин-1-оксиду (4-NQO).

Предположено, что эта повышенная устойчивость связана с увеличением экспрессии Rpn4-зависимых генов репарации ДНК вследствие стабилизации самого фактора транскрипции. Это говорит о необходимости изучения путей репарации, гены которых контролируются Rpn4.

Ген *RAD52* кодирует ключевой белок, необходимый для репарации двуцепочечных разрывов, при этом о регуляции транскрипции этого гена известно мало. В промоторе гена *RAD52* был идентифицирован сайт связывания фактора Rpn4. При помощи CRISPR-редактирования мы получили штамм с мутацией сайта Rpn4 в промоторной области этого гена и подтвердили методом DamID, что Rpn4 не привлекается к мутированному промотору. Методом ПЦР в реальном времени было показано снижение экспрессии гена *RAD52* в соответствующем мутантном штамме. Проверка устойчивости мутантного штамма показала, что он крайне чувствителен к действию ДНК-повреждающих соединений: MMS, 4-NQO, зеоцину. Введение плазмиды, кодирующей полный локус *RAD52*, привело к восстановлению устойчивости к ДНК-повреждающим соединениям.

Итого, мутация сайта связывания Rpn4 в промоторе *RAD52* ведет к снижению экспрессии *RAD52* и гиперчувствительности к ДНК-повреждающим соединениям. Таким образом, *RAD52* - один из ключевых генов-мишеней регуляции Rpn4 в ответе на ДНК-повреждающий стресс.

Источники и литература

- 1) Kapranov, B., Kuriatova, M.V, Preobrazhenskaia, O.V, Tiutiaeva, V.V, Shtuka, R., Feldmann, H., & Karpov, V.L. (2001). Isolation and identification of PMannhaupt,G., Schnall,R., Karpov,V., Vetter,I., & Feldmann, H. (1999). Rpn4p acts as a transcription factor by binding to PACE, a nonamer box found upstream of 26S proteasomal and other genes in yeast. FEBS Letters, 450(1-2), 27–34

- 2) Kapranov, B., Kuriatova, M.V, Preobrazhenskaia, O.V, Tiutiaeva, V.V, Shtuka, R., Feldmann, H., & Karpov, V.L. (2001). Isolation and identification of PACE-binding protein rpn4—a new transcription activator, participating in regulation of 26S proteasome and other genes. *Mol Biol (Mosk)*, 35(3), 420–31
- 3) Karpov, D.S., Spasskaya, D.S., Tutyaeva, V.V, Mironov, A.S., & Karpov, V.L. (2013). Proteasome inhibition enhances resistance to DNA damage via upregulation of Rpn4-dependent DNA repair genes. *FEBS Letters*, 3108–3114