

**Исследование динамики формирования комплексов рекомбиназы RAD51 с
одиночными молекулами ДНК методом оптического захвата**

Научный руководитель – Ходорковский Михаил Алексеевич

Гончаров И.Д.¹, Алексеев А.А.²

1 - Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: bing_fox.2001@inbox.ru*; 2 - Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: alex35093@gmail.com*

Поддержание стабильной, неповрежденной структуры ДНК является одной из важнейших задач клетки. Одним из механизмов восстановления повреждений, которые возникают за счет различных экзогенных и эндогенных факторов является репарация ДНК путем гомологичной рекомбинации. Ключевую роль в этом процессе в клетках эукариот играет белок RAD51 [2] и его комплекс с ДНК в виде нуклеопротеинового филамента RAD51-ДНК, который инициирует инвазию цепи поврежденной молекулы в гомологичную последовательность ДНК другой молекулы, использующейся в качестве матрицы для восстановления повреждений.

В данной работе было проведено исследование динамики построения филамента на однострессовой и двустрессовой ДНК при помощи метода оптического захвата [1]. Для этого в среде с раствором, содержащим 25 мМ Tris-HCl (pH 7.5), 1 мМ MgCl₂, 300 нМ белка RAD51 и 1 мМ АТФ собирали конструкцию, содержащую ДНК, длиной 11100 нуклеотидов (~3.7 мкм), концы которой закреплялись между двумя двухмикронными шариками, находящимися в оптических ловушках, формируемых сфокусированным лазерным излучением. Используя эту конструкцию, были получены воспроизводимые кривые изменения длины при сборке филамента RAD51 на ДНК, оценено время полного формирования комплекса RAD51-ДНК. Так, для двустрессовой ДНК среднее время построения комплекса составило около 600 секунд, для однострессовой около 60 секунд. Средняя длина построенного филамента на двустрессовой ДНК оказалась равной $4,88 \pm 0,06$ мкм, на однострессовой $5,18 \pm 0,04$ мкм.

Экспериментальные результаты указывают на повышенную активность белка RAD51 на однострессовой ДНК, что согласуется с литературными данными о формировании филамента на одноцепочечных участках, возникающих после резекции 5'-концов у двустрессовых разрывов ДНК. Полученные результаты будут использованы для дальнейшего изучения механизмов регуляции комплексов RAD51-ДНК кофакторами различной природы.

Результаты данной работы расширяют представление о формировании комплекса RAD51-ДНК, что представляет как фундаментальный, так и практический интерес, так как понимание регуляции этого процесса может быть использовано при разработке онкопрепаратов, основанных на таргетном ингибировании активности белка RAD51 в опухолевых клетках.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 24-74-00107.

Источники и литература

- 1) Alekseev, A. et al. (2022). Single-molecule characterization of compressed RecA nucleoprotein filaments. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 614, 29–33
- 2) Bonilla, B. et al. (2020) 'RAD51 gene family structure and function', *Annual Review of Genetics*, 54, pp. 25–46.