

**Тепловой стресс ингибирует процессинг фрагментов Оказаки в клетках
млекопитающих**

Научный руководитель – Кантидзе Омар Леванович

Аванесян Богдан Гамлетович

Студент (бакалавр)

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

E-mail: avanesyanbogdan@gmail.com

Введение. Синтез поли(АДФ-рибозы) (PAR) PAR-полимеразами (PARP) является одним из первых событий в репарации одноцепочечных разрывов ДНК. Распознавание повреждения ДНК PARP1 приводит к её активации и PAR-илированию самого фермента, а также других ДНК-ассоциированных белков. PAR-илирование способствует привлечению факторов репарации к месту разрыва и участвует в регуляции структуры хроматина.

Материалы и методы. В работе была использована модель умеренного теплового стресса - инкубация культивируемых клеток человека при температуре 42-45.5°C в течение 30 минут. Для оценки уровня PAR-илирования использовали не прямое иммунофлуоресцентное окрашивание с антителами против PAR, совмещенное с эпифлуоресцентной микроскопией и автоматическим анализом изображений. Анализ внутриклеточной локализации PAR проводили с помощью непрямого иммунофлуоресцентного окрашивания, совмещенного с эпифлуоресцентной микроскопией либо микроскопией высокого разрешения (SIM). Для мечения одноцепочечных участков ДНК в клетке использовали метод ник-трансляции *in situ*.

Результаты. Было показано, что кратковременный тепловой стресс приводит к накоплению PAR в ядрах культивируемых клеток человека, находящихся в S-фазе клеточного цикла. Было продемонстрировано, что сайты PAR-илирования почти полностью колокализуются с сайтами репликации ДНК. Нами было выдвинуто предположение, что индуктором такого PARP1-зависимого ответа на повреждение ДНК при тепловом стрессе являются одноцепочечные разрывы в ДНК, образующиеся в результате нарушения процессинга фрагментов Оказаки. Чтобы проверить это мы провели серию экспериментов с эметином - низкомолекулярным соединением, ингибирующим синтез отстающей цепи ДНК. Оказалось, что предварительная инкубация клеток с эметином предотвращает активацию PARP в клетках, подвергнутых тепловому стрессу. В пользу нашей гипотезы свидетельствуют и результаты ник-трансляции *in situ*: включение флуоресцентно меченых аналогов нуклеотидов увеличивается в клетках, подвергнутых действию теплового стресса.

Выводы. Тепловой стресс ингибирует процессинг фрагментов Оказаки и индуцирует ассоциированный с таким ингибированием PARP1-зависимый ответ на повреждение ДНК.