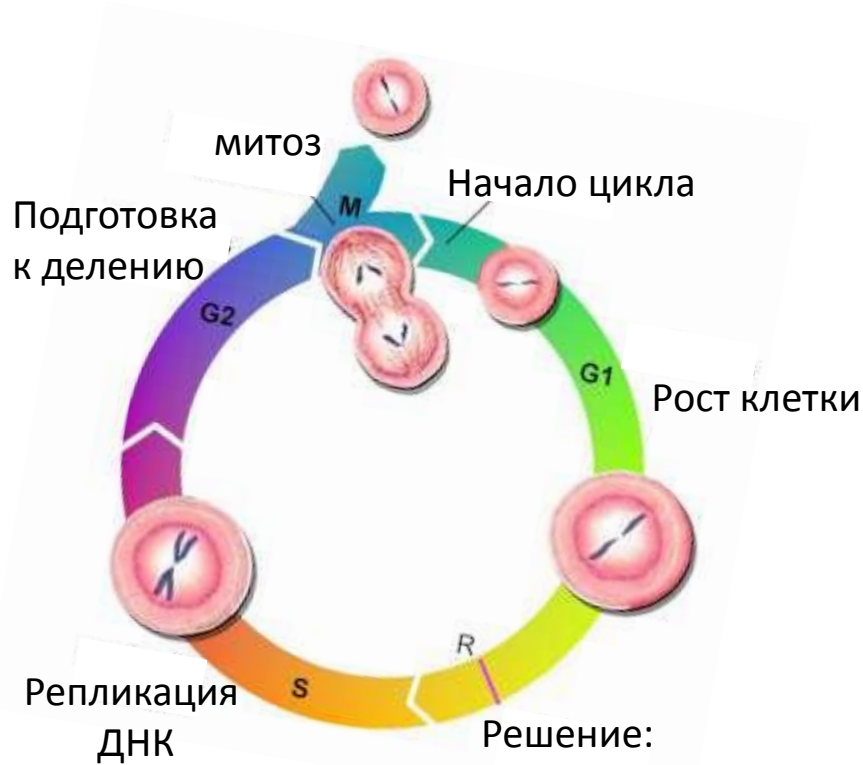


Федеральный исследовательский центр
Институт цитологии и генетики Сибирского отделения
Российской академии наук

Лощенова Полина Сергеевна

Взаимное влияние
эксцизионной репарации оснований и репарации
путем воссоединения негомологичных концов ДНК

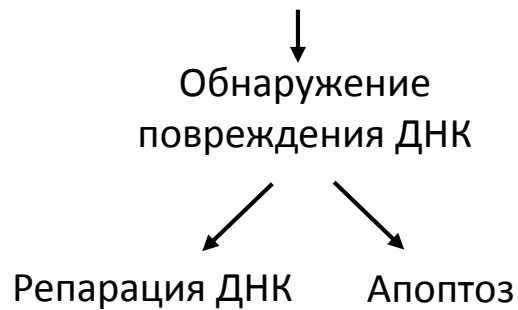
Лаборатория механизмов стабильности гнома
Научный руководитель: д. б. н., профессор Г. Л. Дианов



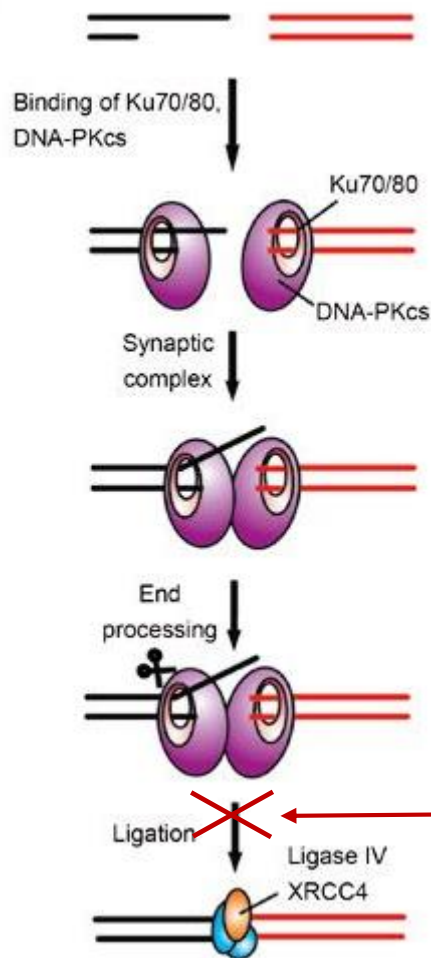
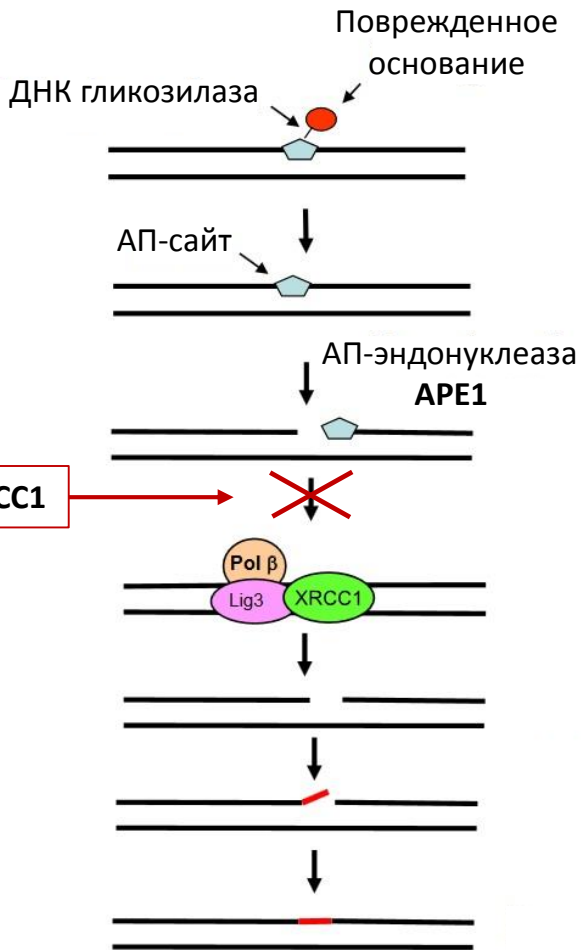
10^3 - 10^5 повреждений в день
в 1 клетке.

В организме содержится около
 10^{13} клеток.

⇒ Системам репарации ДНК
необходимо восстанавливать
 10^{16} - 10^{18} повреждений в день.

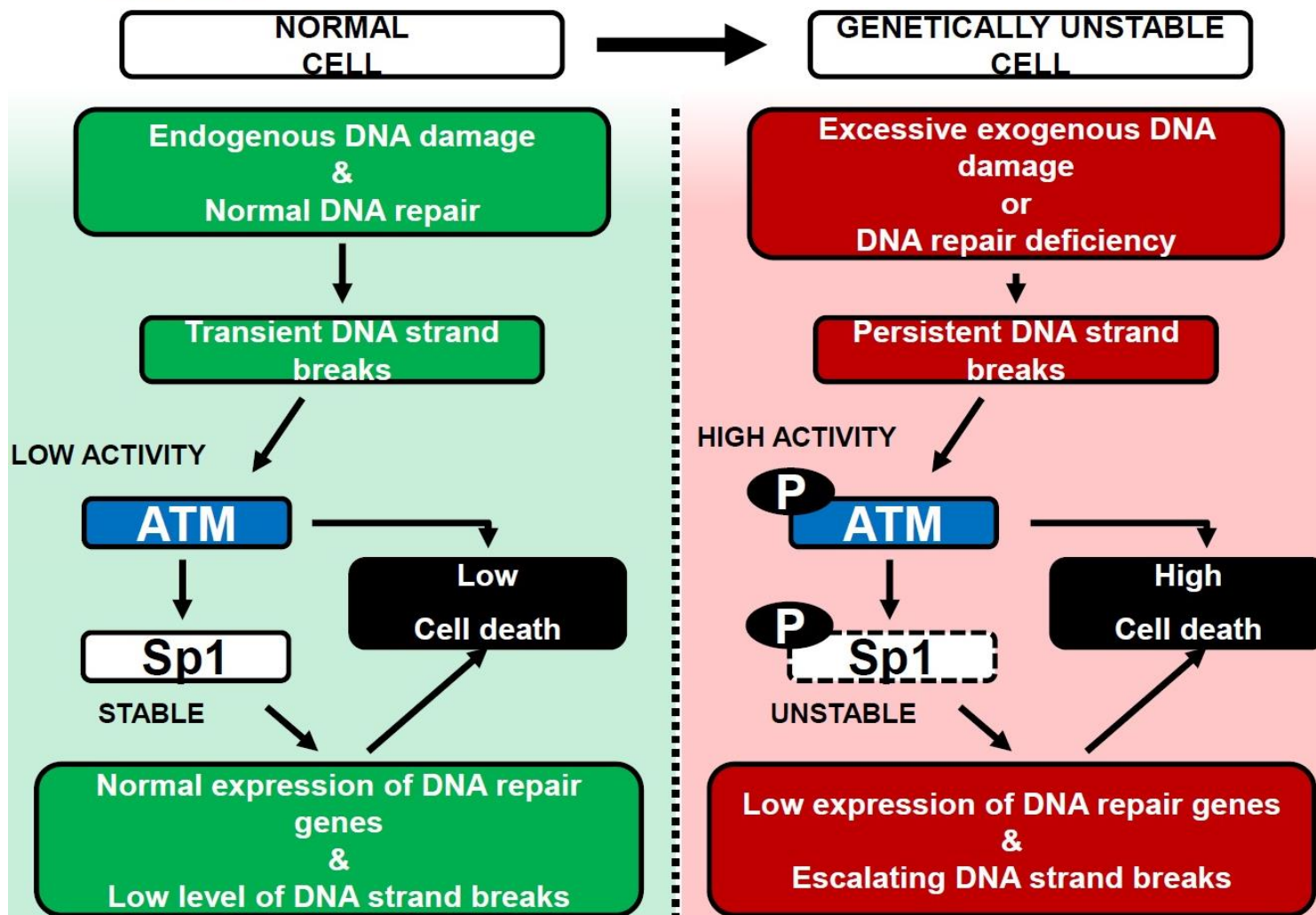


эксцизионная репарация оснований и репарация путем воссоединения негомологичных концов ДНК



Sp1 phosphorylation by ATM downregulates BER and promotes cell elimination in response to persistent DNA damage

Sally C Fletcher,¹ Claudia P Grou,¹ Arnaud J Legrand,¹ Xin Chen,^{1,2} Kalle Soderstrom,³ Mattia Poletto,¹ and Grigory L Dianov^{1,4,5}



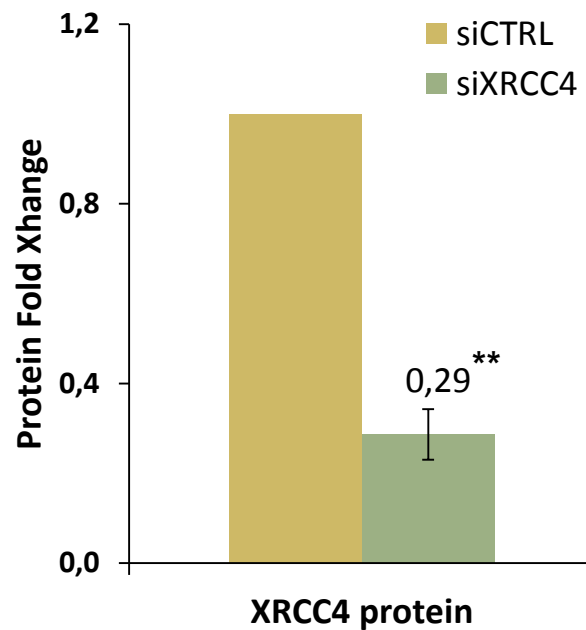
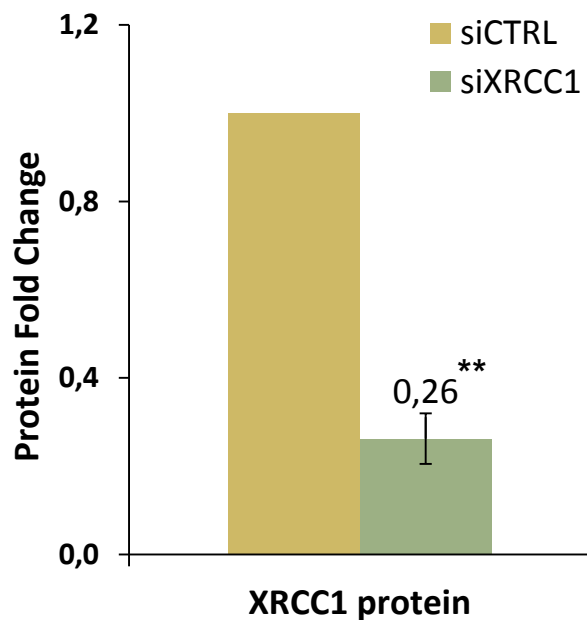
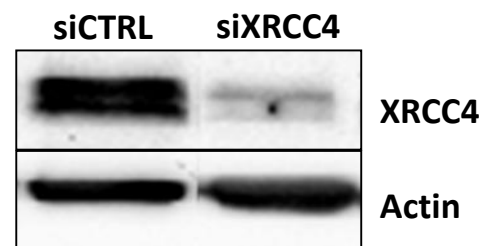
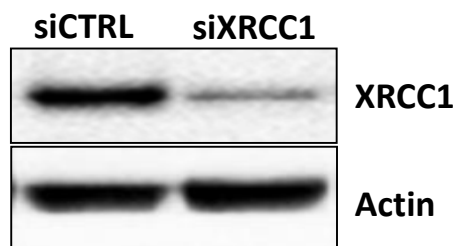
Цель: изучить взаимное влияние эксцизионной репарации оснований и репарации путем воссоединения негомологичных концов ДНК

Предварительные исследования:

Методом РНК-интерференции на клетках эпителия бронхов человека (линия LIMM-NBE1) смоделировать дефект в работе:

- эксцизионной репарации оснований, снизив экспрессию гена *XRCC1*;
- репарации путем воссоединения негомологичных концов ДНК, снизив экспрессию гена *XRCC4*.

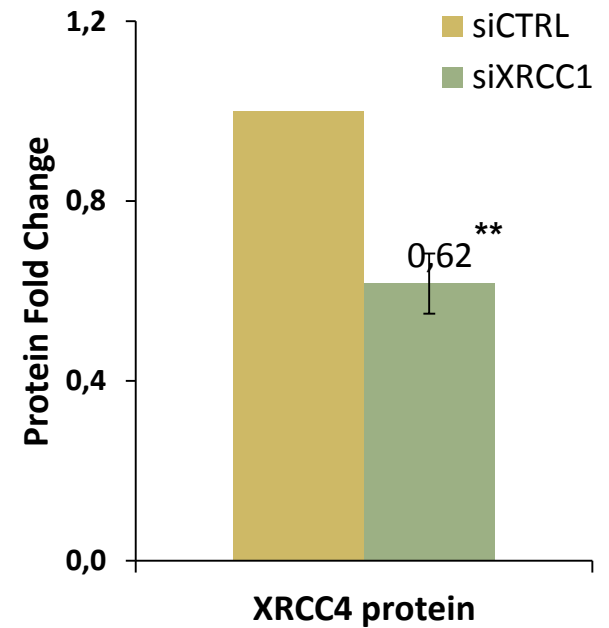
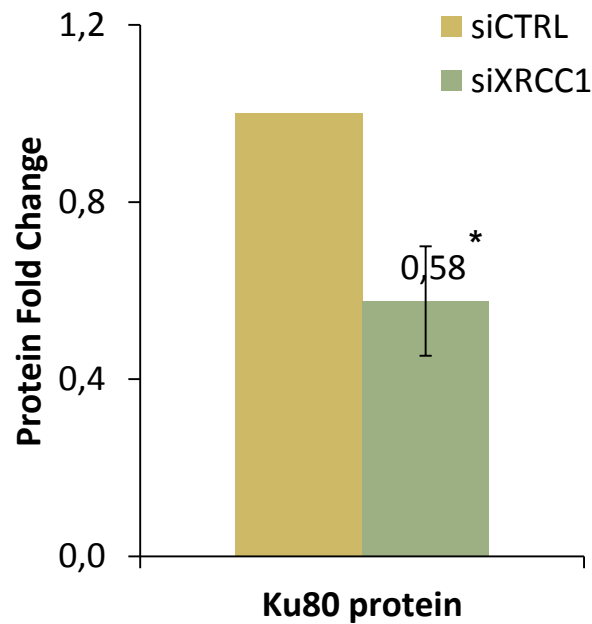
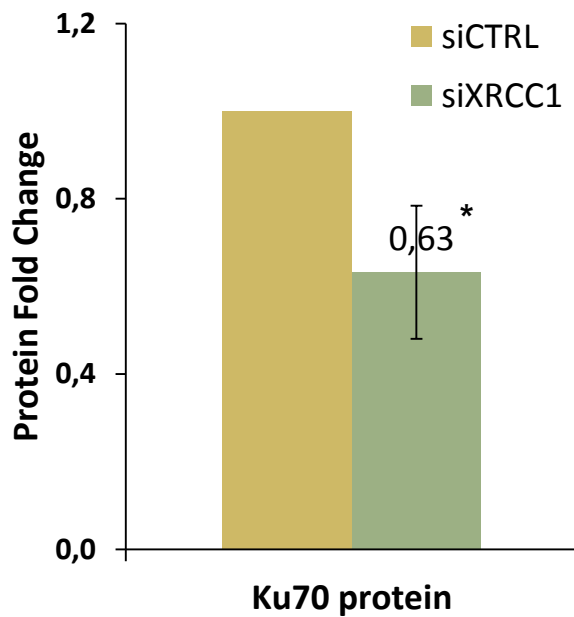
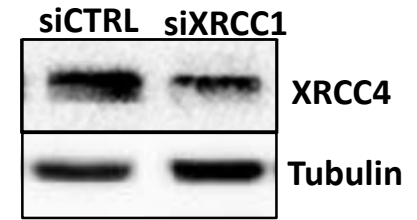
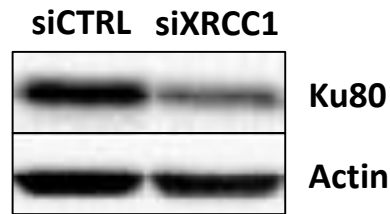
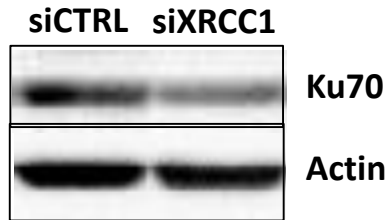
Оценка эффективности 72-часовых нокдаунов генов *XRCC1* и *XRCC4* при помощи вестерн-блота



siCTRL – неспецифическая siRNA.
siXRCC1 – siRNA к гену *XRCC1*.
*: $p < 0.05$. **: $p < 0.01$.

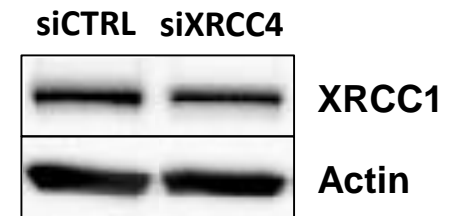
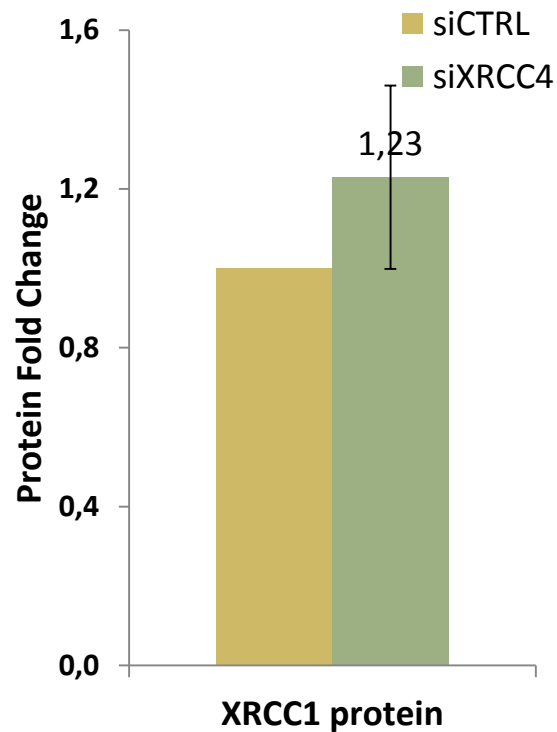
siCTRL – неспецифическая siRNA.
siXRCC4 – siRNA к гену *XRCC4*.
*: $p < 0.05$. **: $p < 0.01$.

Нокдаун гена *XRCC1* уровень белков Ku70, Ku80, XRCC4



siCTRL – неспецифическая siRNA. siXRCC1 – siRNA к гену *XRCC1*. *: $p < 0.05$. **: $p < 0.01$.

Нокдаун гена *XRCC4* уровень белка *XRCC1*



siCTRL – неспецифическая siRNA.
siXRCC4 – siRNA к гену *XRCC4*.

Предварительные результаты

1. Получены клетки эпителия бронхов человека линии LIMM-NBE1, дефицитные по работе системы эксцизионной репарации оснований и клетки дефицитные по работе системы эксцизионной репарации оснований.
2. Продемонстрирована эффективность подавления экспрессии генов *XRCC1* и *XRCC4*.
3. Методом вестрн-блота исследованы белки:
 - Ku70, Ku80, XRCC4 в клетках дефицитных по работе системы эксцизионной репарации оснований;
 - XRCC1 в клетках дефицитных по работе эксцизионной репарации оснований.

Планы

Предварительные данные продемонстрировали взаимосвязь систем эксцизионной репарации оснований и репарации путем воссоединения негомологичных концов ДНК.

Основной целью дальнейшей работы является исследование механизмов этого процесса и его биологические последствия

Планируется:

1. Методом ДНК-Комет исследовать влияние подавления репарации путем воссоединения негомологичных концов ДНК на накопление разрывов ДНК;
2. Исследовать влияние подавления репарации путем воссоединения негомологичных концов ДНК на накопление белков стресса (p53, p21);
3. Исследовать влияние подавления репарации путем воссоединения негомологичных концов ДНК на скорость роста клеток и клеточный цикл;
4. Исследовать влияние подавления транскрипционного фактора Sp1 на экспрессию генов репарации путем воссоединения негомологичных концов ДНК.