

Использование бактериальных аргонавтов для изучения конфликтов транскрипции и репликации

Б.К. Годнеева*, В.А. Пантелеев*, А.В. Кульбачинский**, Д.М. Гельфенбейн***

Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

** авторы внесли равный вклад*

*** avkulb@yandex.ru*

**** es_dar@inbox.ru*

Ключевые слова: аргонавты; транскрипция; репликация; двунитевые разрывы ДНК; РНКазы Н

Using bacterial Argonaute to study transcription-replication conflicts

B.K. Godneeva*, V.A. Panteleev*, A.V. Kulbachinskiy**, D.M. Gelfenbein***

Institute of Gene Biology RAS, Moscow, Russia

** equal contribution*

*** avkulb@yandex.ru*

**** es_dar@inbox.ru*

Key words: Argonaute proteins; transcription; replication; double-strand breaks; RNase H

Во всех делящихся клетках неизбежны конфликты транскрипции и репликации, так как оба процесса происходят на одной молекуле ДНК. Нарушение этого баланса приводит к возникновению структурных повреждений ДНК, включая образование R-петель и одно- и двунитевых разрывов. В работе мы исследовали механизмы этих конфликтов на модели *Escherichia coli* и их влияние на стабильность генома.

Для выявления участков активного процессинга ДНК применен подход с использованием бактериальных белков-Аргонавтов, способных связывать короткие фрагменты ДНК, образующиеся в местах двунитевых разрывов. Создана серия модифицированных штаммов *E. coli*, экспрессирующих белок-Аргонавт, с различной ориентацией индуцибельных генов и делециями факторов репарации. Полученные штаммы выращены в различных условиях для индукции конфликтов транскрипции и репликации, проведено выделение белков-Аргонавтов и ассоциированных с ними нуклеиновых кислот. Секвенирование и анализ распределения по геному связанных с Аргонавтами фрагментов ДНК позволили выявить участки локальной деградации ДНК.

Полученные данные показали, что столкновения транскрипционных и репликационных комплексов приводят к накоплению повреждений ДНК, которые могут быть детектированы с использованием Аргонавтов. Особенно выраженный эффект наблюдался при делеции РНКазы Н: в этих условиях разрывы фиксировались не только при встречной, но и при сонаправленной транскрипции, в частности в активно транскрибируемых рРНК-оперонах. Это подчеркивает важную роль РНКазы Н в предотвращении формирования R-петель и поддержании стабильности генома.

Таким образом, транскрипция может выполнять как защитную функцию, способствуя привлечению факторов репарации, так и провоцировать повреждения ДНК при нарушении ее координации с другими процессами. Бактериальные белки-Аргонавты позволяют локализовать участки нестабильности в геноме и могут быть использованы для детекции процессинга ДНК в бактериальной клетке.

Финансирование: Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № FFEW-2024-0009).