

Исследование эксцизионной репарации оснований с помощью нокаутных клеточных линий человека

Д.В. Ким^{1*}, Д.О. Жарков^{1,2}

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

* kim.daria.nsk@gmail.com

Ключевые слова: АП-сайт; APEX1; 293FT; нокаут

Study of base excision repair with human knockout cell lines

D.V. Kim^{1*}, D.O. Zharkov^{1,2}

¹ Institute of chemical biology and fundamental medicine, SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk national research state university, Novosibirsk, Russia

* kim.daria.nsk@gmail.com

Key words: AP-site; APEX1; 293FT; knockout

Апурин-апириимидиновые (АП-) сайты – это наиболее распространенные повреждения ДНК, возникающие как из-за спонтанной потери основания, так и в ходе эксцизионной репарации оснований. В клетках человека АП-сайты подвергаются репарации АП-эндонуклеазой 1 (APEX1). Мышьиные модели и клеточные линии, нокаутные по АП-эндонуклеазе, хорошо исследованы и охарактеризованы. Однако остается малоизученным процесс репарации АП-сайтов в таких клетках. Мы исследовали эффективность репарации АП-сайтов в клеточной линии 293FT, нокаутной по гену *APEX1*, с помощью плазмидной репортерной системы [1]. Для этого в кодирующую часть нефлуоресцентного варианта *EGFP* в транскрибируемую цепь вводили либо синтетический аналог АП-сайта, либо урацил, который в клетке после удаления основания дает натуральный АП-сайт. Затем клетки трансфицировали полученными плазмидными конструктами и оценивали уровень флуоресценции EGFP. Было показано, что в клеточной линии 293FT *APEX1*^{-/-} синтетический аналог АП-сайта и урацил подвергаются эффективной репарации, что свидетельствует об альтернативных репарационных системах. В клетках человека имеется гомолог APEX1, APEX2, который обладает минорной АП-эндонуклеазной активностью. Нами были получены клеточные линии с двойным нокаутом генов *APEX1* и *APEX2*. Было показано, что АП-сайты эффективно подвергаются репарации в этих клетках. ДНК-гликозилазы, которые удаляют поврежденное основание в ходе эксцизионной репарации оснований, способны процессировать АП-сайты. Среди таких бифункциональных ДНК-гликозилаз можно выделить NTHL1, которая обладает выраженной АП-лиазной активностью. Нами было показано, что в клеточной линии *NTHL1*^{-/-} снижена эффективность репарации натурального АП-сайта, что свидетельствует о роли NTHL1 как запасной системы в репарации АП-сайтов.

Финансирование: Исследование поддержано российским научным фондом № 21-64-00017П (интернет-ссылка <https://rscf.ru/project/21-64-00017/>).

Список литературы

1. Rodriguez-Alvarez M., Kim D., Khobta A. EGFP reporters for direct and sensitive detection of mutagenic bypass of DNA lesions. *Biomolecules*. 2020;10(6):902