

Транслезионная активность ДНК-полимеразы REV1 человека**Научный руководитель – Макарова Алена Владимировна***Новикова А.А.¹, Шилкин Е.С.²*

1 - МИРЭА - Российский технологический университет, Институт тонких химических технологий, Кафедра биотехнологии и промышленной фармации, Москва, Россия, *E-mail: annnovikova00@icloud.com*; 2 - Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия, *E-mail: annnovikova00@icloud.com*

Повреждения ДНК блокируют работу высокоточных репликативных ДНК-полимераз и являются источником нестабильности генома. Синтез ДНК в поврежденных участках, которые не были репарированы до очередного раунда репликации, осуществляется специализированными высокоошибочными ДНК-полимеразами, формирующими комплекс - транслесому - в ходе транслезионного синтеза. Нарушение работы транслезионных ДНК-полимераз приводит к повышенной чувствительности клеток к ДНК-повреждающим агентам и может вызывать их канцерогенное перерождение. Кроме того, транслезионный синтез играет роль в формировании устойчивости к химиотерапии [1], а некоторые транслезионные ДНК-полимеразы рассматриваются в качестве терапевтических мишеней при онкологических заболеваниях.

REV1 - ключевая транслезионная ДНК-полимераза эукариот, действующая одновременно как цитидинтрансфераза и служащая платформой для сборки транслесомы [2]. REV1 человека включает dCMP напротив целого ряда повреждений ДНК, однако, свойства фермента мало исследованы из-за методических сложностей с получением препаратов полноразмерного белка. В настоящей работе охарактеризована транслезионная активность рекомбинантной ДНК-полимеразы REV1 человека на неповрежденных ДНК-субстратах и ДНК-субстратах, содержащих распространенные и биологически значимые повреждения ДНК разной структуры. Показано, что *in vitro* REV1 эффективно включает dCMP напротив АП-сайтов и 8-оксогуанина, но не включает нуклеотидные субстраты напротив клинически-значимого повреждения - внутрицепочечной цисплатиновой сшивки - основного аддукта цисплатина при химиотерапии.

Показано, что в отличие от большинства репликативных и транслезионных ДНК-полимераз, REV1 эффективно проходит блокирующее уотсон-криковские взаимодействия повреждение 1,N⁶-этенoadенин. Показано существенное снижение эффективности REV1 при прохождении 7-дезааденина и 7-дезагуанина, блокирующих хугстиновские взаимодействия. Полученные данные указывают на уникальный механизм работы активного центра REV1, основанный на ДНК-белковом узнавании или хугстиновском взаимодействии.

Работа поддержана грантом РФФИ 18-14-00354-П.

Источники и литература

- 1) Шилкин, Е.С. Транслезионный синтез и ре-инициация синтеза ДНК в формировании устойчивости к химиотерапии // Биохимия. 2020, №85. С. 1021-1036.
- 2) Шилкин, Е.С. Транслезионный синтез ДНК и канцерогенез // Биохимия. 2020, №85. С. 494-506.