

**Тест-система для детекции мутагенов на основе дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*****Научный руководитель – Королёв Владимир Геннадиевич***Курбанов Г.Ф.<sup>1</sup>, Колганова А.В.<sup>2</sup>*

1 - Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: tatanka.sn@gmail.com*; 2 - Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: vkoltoganol@mail.ru*

С ростом мировой химической промышленности быстро увеличивается количество отходов, часть которых попадает в окружающую среду. Среди этих отходов могут находиться вещества, обладающие мутагенным и канцерогенным потенциалом. Генетические события, вызываемые такими веществами, помимо влияния на человека и качество его жизни, могут значительным образом влиять на баланс между популяциями организмов, населяющих загрязненный район. Для обнаружения генотоксикантов в окружающей среде были созданы различные тест-системы, среди которых большую известность получили бактериальный тест Эймса на основе *Salmonella typhimurium* [2] и тест Лоприено на основе дрожжей *Schizosaccharomyces pombe* [6]. Ранее в ПИЯФ уже были созданы несколько штаммов дрожжей-сахаромицетов, которые использовались в качестве основы системы детекции мутагенов. Самым успешным из созданных штаммов считается ЗС-СКВ-173, ключевыми мутациями в геноме которых были делеции по генам *HIM1* и *RAD2* [1]. В рамках нашего проекта мы получили более чувствительный штамм с генотипом *rad2Δ hsm3Δ apn1Δ*, который позволяет рассматривать его как перспективную тест-систему для анализа генотоксичности различных веществ.

Мутация *rad2* приводит к высокой чувствительности клеток к летальному и мутагенному действию веществ значительно изменяющим вторичную структуру ДНК, так как она блокирует один из основных путей ее репарации [4].

Ген *APN1* относится к ключевым генам, контролирующим другой путь репарации, субстратом которого являются повреждения оснований ДНК, влияющие на эффективность и точность репликации. Данный репарационный путь отвечает за удаление таких типов повреждений, как алкилированные основания, различные формы окисленных или химически модифицированных оснований [7].

Ключевой и наиболее интересной в нашей штамме является делеция гена *HSM3*. При обработке мутагенами делеция *HSM3* (*hsm3::URA3*), практически, не снижает выживаемость клеток, но кратно увеличивает частоту индуцированных мутаций. При этом в отношении индуцированного мутагенеза мутация *rad2Δ* взаимодействует с *hsm3Δ* по принципу синергии, что в свою очередь увеличивает чувствительность системы.

Ген *HSM3* вовлечен в регуляцию механизма, который обеспечивает толерантность клетки к повреждениям ее генетического материала. В норме этот механизм позволяет репликативной машине безошибочно обходить повреждения ДНК и спасти клетку от гибели. Мутация *hsm3* не нарушает обход повреждения, но приводит к большому числу ошибок полимеразы при репаративном синтезе ДНК в районе повреждения, таким образом увеличивает вероятность обнаружения повреждения ДНК тест системой [3, 5].

Полученный нами штамм с делециями генов *RAD2*, *HSM3*, *APN1* способен стать важным инструментом в качестве тест-системы для детекции генетически активных соединений.

**Источники и литература**

- 1) Ковальцова, С.В. Штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* для тестирования мутагенов окружающей среды, основанный на взаимодействии мутаций *rad2* и *him1* / С.В. Ковальцова, В.Г. Королев // Генетика. – М.: Наука, 1996. – Т.32. – N. 3. – С. 366 – 372.
- 2) Ames, B. N., McCann, J., & Yamasaki, E. (1975). Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutation research*, 31(6), 347–364.
- 3) Fedorova, I. V., Kovaltzova, S. V., & Korolev, V. G. (2000). The yeast HSM3 gene is involved in DNA mismatch repair in slowly dividing cells. *Genetics*, 154(1), 495–496.
- 4) Habraken, Y., Sung, P., Prakash, L., & Prakash, S. (1993). Yeast excision repair gene RAD2 encodes a single-stranded DNA endonuclease. *Nature*, 366(6453), 365–368.
- 5) Ivanov, E. L., Kovaltzova, S. V., & Korolev, V. G. (1989). *Saccharomyces cerevisiae* mutants with enhanced induced mutation and altered mitotic gene conversion. *Mutation research*, 213(2), 105–115.
- 6) Loprieno, N., Barale, R., Bauer, C., Baroncelli, S., Bronzetti, G., Camellini, A., Cinci, A., Corsi, G., Leporini, C., Neri, R., Nozzolini, M., & Serra, C. (1974). The use of different test systems with yeasts for the evaluation of chemically induced gene conversions and gene mutations. *Mutation research*, 25(2), 197–217.
- 7) Popoff, S. C., Spira, A. I., Johnson, A. W., & Demple, B. (1990). Yeast structural gene (APN1) for the major apurinic endonuclease: homology to *Escherichia coli* endonuclease IV. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(11), 4193–4197.