

**Разработка метода на основе количественной ПЦР в реальном времени для оценки эксцизионной активности системы NER млекопитающих *in vitro***

**Научный руководитель – Петрусева Ирина Олеговна**

**Укладов Егор Олегович**

*Студент (бакалавр)*

Новосибирский государственный университет, Факультет естественных наук,  
Новосибирск, Россия

*E-mail: e.ukladov@g.nsu.ru*

Система эксцизионной репарации нуклеотидов (NER) удаляет из ДНК широкий спектр объёмных аддуктов, возникающих в результате повреждающих воздействий. В процессе NER происходит эксцизия содержащего повреждение участка ДНК длиной 24-32 нт и последующее восстановление исходной структуры цепи в результате репаративного синтеза и лигирования [1]. Нарушения в работе NER являются причиной развития тяжёлых синдромов, таких как пигментная ксеродерма, синдром Коккейна, трихотиодистрофия, которые характеризуются повышенной чувствительностью к действию УФ-излучения и повышенным риском развития нейродегенеративных и онкологических заболеваний. В тоже время, высокая активность NER, наблюдаемая в опухолевых клетках, может вносить вклад в их резистентность к химиотерапевтическим препаратам. Разработка методов оценки активности системы NER важна, таким образом, для предсказания эффективности химиотерапии при подборе индивидуального лечения пациентов.

Целью исследования была разработка метода оценки эксцизионной активности NER *in vitro* с помощью qPCR-анализа. В ходе работы осуществлён синтез протяжённых (137 и 160 п.н.) линейных ДНК-субстратов, содержащих модельное объёмное повреждение N-[6-(5(6)-флуоресцеинилкарбамоил)-гексаноил]-3-амино-1,2-пропандиол (nFlu) и выполнена оценка эксцизионной активности системы NER экстракта клеток CHO с использованием ранее разработанного в лаборатории метода постэксцизионного мечения продуктов [2]. Проведена оптимизация условий проведения qPCR с использованием nFlu-ДНК (160 п.н.). В результате нам удалось детектировать и количественно оценить эффективность специфической эксцизии, катализируемой белками клеточного экстракта. Таким образом, данный метод может быть использован для оценки функционального статуса NER клеток млекопитающих *in vitro*.

### **Источники и литература**

- 1) Евдокимов, А. Н., Лаврик, О. И., Пестряков, П. Е., & Петрусева, И. О. (2011). Фотоактивируемые ДНК-аналоги субстратов системы эксцизионной репарации нуклеотидов и их взаимодействие с белками NER-компетентного экстракта клеток HeLa. Синтез и применение протяженных модельных ДНК. Биохимия, 76(1).
- 2) Петрусева, И. О., Евдокимов, А. Н., & Лаврик, О. И. (2014). Молекулярные механизмы действия системы общегеномной эксцизионной репарации нуклеотидов. Acta Naturae (Русскоязычная Версия), 6(1 (20)), 2014.