

**УГЛУБЛЕННЫЙ АНАЛИЗ РАДИАЦИОННОЙ ИНДУКЦИИ ПРОМОТОРОВ ГЕНОВ
СТРЕСС-ОТВЕТА В КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА****Лескова Л.М. (ИТМО)****Научный руководитель – кандидат биологических наук, доцент Велегжанинов И.О.
(ИТМО)**

Введение. Одним из значительных последствий воздействия ионизирующего излучения на живые клетки является повреждение митохондриальной ДНК [1], что приводит к развитию радиационно-индуцированной митохондриальной дисфункции. Эта дисфункция, в свою очередь, инициирует выработку активных форм кислорода [2], что усугубляет клеточные повреждения и создает порочный круг [3]. Защита митохондриальной ДНК от таких повреждений представляет собой многообещающий подход для повышения устойчивости клеток к ионизирующему излучению и окислительному стрессу. Одним из перспективных методов решения данной проблемы является оверэкспрессия генов стресс-ответа. Однако подобные изменения сопровождаются побочными эффектами, вызванными нарушением регуляции других клеточных механизмов. Для снижения риска возникновения нежелательных эффектов могут быть использованы промоторы, индуцируемые стрессом. С помощью такого рода промотора эктопическая экспрессия генов стресс-ответа (например, антиоксидантных) может индуцироваться после получения радиационного повреждения, именно к моменту развития радиационно-индуцированной митохондриальной дисфункции, что будет приводить к усилению борьбы с ней. Ранее была создана полностью синтетическая конструкция, основанная на выборках из случайных комбинаций регуляторных цис-элементов [4], однако данный промотор продемонстрировал низкую чувствительность и индуцируемость. Для создания промотора с улучшенными характеристиками необходим анализ профилей экспрессии и параметров индукции (чувствительности, скорости и амплитуды) наиболее индуцируемых генов стресс-ответа в идентичных экспериментальных условиях, а также изучение состава и расположения их регуляторных элементов.

Основная часть. Проведена систематизация значительного объёма исследований, в результате которой найдено 40 актуальных работ, посвященных изменению профиля экспрессии генов в человеческих клетках после воздействия ионизирующего излучения. Составлен суммарный список генов, чья экспрессия менялась статистически значимо. На основе частоты повторений генов в рамках объединённого и приведенного к стандартной номенклатуре списка был создан топ лист наиболее воспроизводимо индуцируемых ионизирующим излучением генов. Двадцать два гена (*CDKN1A*, *GADD45A*, *PCNA*, *MDM2*, *DDB2*, *BBC3*, *GDF15*, *XPC*, *CCNG1*, *ATF3*, *FAS*, *FDXR*, *PLK3*, *IER5*, *BTG2*, *PLK2*, *TNFSF4*, *SESN1*, *TIGAR*, *TNFRSF10B*, *PPM1D*, *BAX*), повторяющиеся в объединенном списке от 4 до 19 раз были выбраны для детального исследования параметров радиационной индукции в пределах одной экспериментальной системы. Проанализирована экспрессия данных генов в клетках HEK293T и HT29 через 6, 12, 24 и 48 часов после облучения в дозах 0 Гр, 0,5 Гр, 1 Гр, 2 Гр, 6 Гр (¹³⁷Cs, 0.74 Гр/мин). Параметры индукции экспрессии (чувствительность, амплитуда, способность к ранней (6 ч) индукции, протяжённость) сопоставлены с составом сайтов распознавания транскрипционными факторами в промоторах генов (на основе данных в БД JASPAR).

Выводы. На основе литературных данных составлен список наиболее воспроизводимо радиационно-индуцируемых генов. В выравненных экспериментальных условиях выполнен сравнительный анализ радиационной индукции экспрессии в двух клеточных линиях. На основе сравнения параметров индукции с составом промоторов предложены варианты дизайна усиленного радиационно-индуцированного промотора.

Список использованных источников:

1. Livingston K, Schlaak RA, Puckett LL, Bergom C. The Role of Mitochondrial Dysfunction in Radiation-Induced Heart Disease: From Bench to Bedside. *Front Cardiovasc Med*. 2020 Feb 21;7:20. doi: 10.3389/fcvm.2020.00020;
2. Saenko Y, Cieslar-Pobuda A, Skonieczna M, Rzeszowska-Wolny J. Changes of reactive oxygen and nitrogen species and mitochondrial functioning in human K562 and HL60 cells exposed to ionizing radiation. *Radiat Res*. 2013 Oct;180(4):360-6. doi: 10.1667/RR3247.1;
3. Shokolenko IN, Wilson GL, Alexeyev MF. Aging: A mitochondrial DNA perspective, critical analysis and an update. *World J Exp Med*. 2014 Nov 20;4(4):46-57. doi: 10.5493/wjem.v4.i4.46;
4. Ogawa R, Morii A, Watanabe A, Cui ZG, Kagiya G, Fukuda S, Kume K, Hasegawa T, Hatashita M, Izumi H, Ishimoto T, Feril LB Jr. Development of a therapeutically important radiation induced promoter. *Bioengineered*. 2013 Jan-Feb;4(1):44-9. doi: 10.4161/bioe.21965.