

# Pso2-závislá a Pso2-nezávislá dráha opravy medzireťazcových krížnych väzieb v kvasinkách *Saccharomyces cerevisiae*

Jana Rendeková, Peter Lehoczky, Zuzana Dudášová, Danuša Vlasáková,  
Mangesh Bhide, Miroslav Chovanec

Ústav experimentálnej onkológie SAV, Vlárská 7, 833 91 Bratislava, Slovensko;  
*jana.loduhova@savba.sk*

Chemické látky vytvárajúce ICL zahŕňajú bifunkčné alkylačné látky, také ako dusíkaté yperity (HN<sub>2</sub>), mitomycín C (MMC) a platínu obsahujúce látky ako cisplatina (CDDP). Dodnes sa v klinickej praxi využívajú na liečbu rôznych nádorových ochorení [1]. Tieto látky sú schopné vytvárať v DNA krížne väzby, ktoré predstavujú kovalentné spojenia dvoch dusíkatých báz, buď v rámci jedného vlákna DNA (vnútroreťazcové krížne väzby – IaCL), alebo oboch vlákien DNA (medzireťazcové krížne väzby – ICL). ICLs sú pre bunku mimoriadne toxické, nakoľko počas opravy nie je k dispozícii templát pre tvorbu komplementárneho reťazca DNA. Na oprave ICL poškodení sa zúčastňujú reparačné faktory najmenej troch nezávislých reparačných dráh, a to nukleotidovej excíznej opravy (NER), homologickej rekombinácie (HR) a transláznej syntézy DNA [2]. Účinná oprava ICL u kvasiniek je závislá na Pso2 proteíne, ktorý nesie konzervovanú metalo- $\beta$ -laktamázovú doménu, esenciálnu pre jeho reparačnú úlohu [3]. Hoci *PSO2* bol zaradený do NER epistatickej skupiny, *pso2* mutant je schopný štiepiť ICL a vytvárať zlomy v DNA [4]. Ďalším špecifickým faktorom ICL opravy účinkujúcim v Pso2-nezávislej vetve je Mgm101 proteín, podieľajúci sa na replikácii a udržiavaní mitochondriálnej DNA (mtDNA) v kvasinkách. *MGM101* bol izolovaný v genetickom skríningu mutantov zapríčínujúcich termo-senzitívnu stratu mtDNA [5]. Nesie vysokú evolučnú konzervovanosť C koncovej domény s vyššou proporciou bázických aminokyselín, cez ktoré sa proteín viaže na DNA [6].

V predchádzajúcich experimentoch sme potvrdili epistatickosť *MGM101*, *MSH2* a *MPH1* v procese opravy ICL v bunkách postrádajúcich Pso2. Interakcie v rámci Msh2/Msh6/Mgm101/Mph1 komplexu boli okrem genetickej analýzy ukázané aj pomocou ko-imunoprecipitácie a hmotnostnej spektrometrie. Za účelom detailnejšej analýzy funkcie odlišných domén Mgm101 proteínu v oprave ICL sme skonštruovali skrátené mutantné alely Mgm101. Delícia 22 AK z N konca vedie k strate mitochondriálnej signálnej sekvencie a delícia 76 AK z N konca zachováva len funkčné jadro proteínu. Divý typ a mutantné alely Mgm101 sme transformovali do buniek divého typu, ako aj do *pso2*, *mgm101<sup>ts</sup>* a *pso2 mgm101<sup>ts</sup>* mutantných buniek za účelom zistenia domén proteínu Mgm101, ktoré sú potrebné pre jeho funkciu v Mgm101/Mph1/Msh2/Msh6-závislej dráhy opravy ICL. Na základe nami získaných výsledkov sa zdá, že zachovanie integrity genómu po indukcii ICL je kontrolované dvoma súčasne pôsobiacimi dráhami, ktoré sú síce funkčne evolučne konzervované, vykazujú však rozdielny príspevok k celkovej oprave tohto typu poškodenia DNA.

[1] McHugh, *Lancet Oncol.*, **2001**, 2, 483–490.

[2] Grossmann, *Mut. Res.*, **2000**, 461, 1–13.

[3] Li, *DNA Repair.*, **2003**, 2, 121–129.

[4] Barber, *Mol. and Cell. Biol.*, **2005**, 25, 2297–2309.

[5] Chen, *Nucleic Acids Res.*, **1993**, 21, 3473–3477.

[6] Zuo, *FEMS Yeast Res.*, **2007**, 7, 131–140.