**Влияние белка PARP1 на теломеры человека**

*Савельев Никита Валерьевич*

*Студент*

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,*

*Химический факультет, Москва, Россия*

*E-mail:* *nikitasavel@gmail.com*

На концах хромосом всех эукариот присутствуют нуклеотидные повторы (у позвоночных TTAGGG), защищающие хромосомы от деградации и концевого слипания, - теломеры. Из-за концевой недорепликации в процессе жизни клеток с каждым актом деления теломеры укорачиваются, пока не достигнут критической длины, после чего клетка гибнет. Чтобы этого не произошло раньше времени, существует фермент теломераза, активный в большинстве раковых клеток, в половых и стволовых клетках. Это рибонуклеопротеидный комплекс, состоящий из белкового компонента TERT и теломеразной РНК TER [1].

С теломерами связан белковый комплекс, состоящий из множества белков, - шелтерин. В литературе показано, что одним из белков, ассоциированных с шелтерином, является белок PARP1. PARP1 - это поли(АДФ-рибоза)-полимераза, которая является одним из ранних сенсоров на повреждения ДНК [2]. Известно, что у долгожителей уровень активности этого белка больше, чем у обычных людей [3]. Также ингибирование PARP1 считается перспективным лечением тех типов рака, в клетках которых есть дефектные белки семейства BRCA [4].

Основываясь на этих данных, мы приняли решение получить стабильные клеточные линии человека с суперэкспрессией PARP1, проверить активность теломеразы в них, определить колокализацию PARP1 и белков шелтеринового комплекса TRF1 и TRF2, определить среднюю длину теломер в клеточной популяции и проверить, как ведут себя концы хромосом клеток в метафазе митоза. Также мы хотим получить стабильные клеточные линии, экспрессирующие малые шпилечные РНК, которые затем разрезаются специальным внутриклеточным комплексом до малых интерферирующих РНК, подавляющих экспрессию PARP1, и провести те же исследования, что и с клетками, суперэкспрессирующими PARP1.

Нами отработаны методика иммуногистохимического окрашивания белков антителами, методика мечения теломер на метафазных хромосомах (FISH), получены различные конструкции, кодирующие PARP1 и слитый с синим флуоресцентным белком PARP1. Также получены лентивирусные конструкции для экспрессии малых шпилечных РНК и стабильные клеточные линии HEK293 на их основе.

**Литература**

1. Collins K. The biogenesis and regulation of telomerase holoenzymes // Nature reviews. Molecular Cell Biology. 2006. Vol.7. P. 484-494.

2.PARP1 Is a TRF2-associated Poly(ADP-Ribose)Polymerase and Protects Eroded Telomeres // Molecular Biology of the Cell Vol. 17, 1686–1696, April 2006

3. Increased poly(ADP-ribose) polymerase activity in lymphoblastoid cell lines from centenarians // J Mol Med (1998) 76:346–354

4. Bryant HE, Schultz N, Thomas HD, Parker KM, Flower D, Lopez E, Kyle S, Meuth M, Curtin NJ, Helleday T (April 2005). "Specific killing of BRCA2-deficient tumours with inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase". // Nature 434 (7035): 913–7.