



Комплексы CDK1/CDC28, SAGA, RENT и хронологическое старение

Н.А. Колтова¹, Р. Христова², А. Господинов²

¹ Объединенный институт ядерных исследований, Дубна

² Институт молекулярной биологии БАН, София, Болгария

koltovaya@jinr.ru

С возрастом происходит снижение общего количества митохондрий, нарушение их внутренней структуры, снижается общее количество мтДНК, накапливаются различные повреждения мтДНК, происходит усиление образования активных форм кислорода (АФК). Митохондрии служат источником эндогенных радикалов кислорода, в частности супероксид аниона. АФК, в свою очередь, активируют апоптотический путь, приводящий к гибели клеток. Уровень АФК может оказывать влияние также на копияность мтДНК. Изучение механизмов стабилизации мт генома представляет несомненный научный и практический интерес. Хорошей моделью являются дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, которые сохраняют жизнеспособность даже в отсутствии мтДНК (*rho*⁰ мутанты).

Было получено несколько ядерных мутаций, снижающих мутагенез и стабилизирующих мт геном, в том числе локализованных в генах *SRM5/CDC28*, *SRM12/ADA1* и *SRM8/NET1*, кодирующих субъединицы комплексов CDK1, SAGA и RENT, отвечающих за фосфорилирование, ацетилирование и деацетилирование (Sir2) гистонов. Используя метод амплификации ПЦР–РТ провели анализ копияности мтДНК. У проанализированных мутантов копияность мтДНК возросла примерно в два раза.

Используя два метода, определение КОЕ (колонии-образующие единицы) и окраска клеток флуоресцентными красителями АО/PI, проанализировали хронологическое старение мутантных клеток. Было показано, что мутации, несмотря на стабилизацию мт генома, снижают жизнеспособность клеток с возрастом, а удаление мтДНК усиливает эффект. Известно, что мутация *ada1/srm12* ускоряет и репликативное старение (Sinclair et al., 1997).

Основной причиной хронологического старения является накопление в среде продукта метаболизма дрожжей — уксусной кислоты, которая индуцирует апоптотическую гибель клеток. Провели анализ выживаемости клеток при обработке перекисью, индуцирующей апоптоз, а также с помощью флуоресцентного красителя (AnnexinV-FITC/PI) прямую оценку индукции апоптоза перекисью и в процессе старения культур. Кроме того, исследовали влияние мутаций на оксидативную активность штаммов с помощью жидкостной цитометрии и специализированных красителей АФК (H₂DCFDA, DHR123, DHE). Наблюдалась корреляция данных. Можно предположить, что комплексы CDK1, SAGA и RENT участвуют в регуляции апоптоза.