

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-247

РАСЩЕПЛЕНИЕ РНК В СОСТАВЕ МОДЕЛЬНЫХ R-ПЕТЕЛЬ РИБОНУКЛЕАЗОЙ H1 *E. COLI*\*CLEAVAGE OF RNA WITHIN MODEL R-LOOPS BY RIBONUCLEASE H1 *E. COLI*Ю. А. Косарев<sup>1,2</sup>, Н. А. Тимофеева<sup>2</sup>, А. А. Кузнецова<sup>2</sup>, Н. А. Кузнецов<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Новосибирский государственный университет<sup>2</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, НовосибирскI. A. Kosarev<sup>1,2</sup>, N. A. Timofeeva<sup>2</sup>, A. A. Kuznetsova<sup>2</sup>, N. A. Kuznetsov<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Novosibirsk State University<sup>2</sup>Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk

✉ iuriikosarev@yandex.ru

**Аннотация**

В данной работе проведен кинетический анализ особенностей взаимодействия РНКазы H1 из *E. coli* с модельными R-петлями различной структуры в стационарных условиях. Показано, что на скорость гидролиза РНК-праймера в составе модельных R-петель под действием РНКазы H1 оказывает значительный эффект размер гетеродуплексной части R-петли. Также исследован гидролиз РНК-праймера в составе модельных R-петель под действием РНКазы H1 в присутствии РНК-полимеразы. Показано, что в присутствии РНК-полимеразы гидролиз РНК-праймера в составе модельных R-петель под действием РНКазы H1 протекает медленнее.

**Abstract**

In this study, the kinetic analysis of the interaction of RNase H1 from *E. coli* with model R-loops of different structures under steady-state conditions was performed. It has been shown that the rate of hydrolysis of the RNA-primer in the model R-loops under the action of RNase H1 is significantly affected by the size of the heteroduplex moiety. The hydrolysis of the RNA-primer in the model R-loops under the action of RNase H1 in the presence of RNA polymerase was also studied. It was shown that in the presence of RNA polymerase, the hydrolysis of the RNA primer in the model R-loops under the action of RNase H1 proceeds more slowly.

Одновременное протекание процессов репликации и транскрипции на близлежащих участках молекулы ДНК приводит к взаимному влиянию и нарушению обоих процессов. Репликативные вилки, приближающиеся к генам с высокой степенью транскрипции, индуцируют образование R-петлей и способствуют развитию конфликта транскрипции-репликации (Transcription-Replication Conflict, TRC). При этом последствия TRC различаются в зависимости от того, в какую сторону движутся транскрипционный и репликативный комплексы. Так, например, у бактерий большинство генов организованы сонаправленно, что позволяет избегать встречный конфликт, однако некоторые ключевые гены вирулентности и реакции на стресс ориентированы во встречном направлении относительно репликации. Установлено, что встречный конфликт приводит к остановке процесса репликации и является основным источником нестабильности генома, как непосредственно за счет блокирования репликации, так и за счет повышения риска повреждения одноцепочечного участка ДНК в R-петлях.

Идентификация клеточных регуляторных механизмов, ответственных за деблокирование репликации в процессе TRC и изучение молекулярных механизмов, которые используются клетками для предотвращения негативных эффектов R-петель, имеет важное значение для понимания основных клеточных функций поддержания стабильности геномной ДНК. Один из механизмов разрешения TRC в геномной ДНК осуществляется с помощью членов семейства ферментов, обладающих активностью РНКазы H.

В связи с этим в рамках настоящей работы с целью реконструкции *in vitro* молекулярных взаимодействий между белками — участниками процесса TRC проведен кинетический анализ особенностей взаимодействия РНКазы H1 из *E. coli* с модельными R-петлями различной структуры в стационарных условиях. Показано, что на скорость гидролиза РНК-праймера в составе модельных R-петель под действием РНКазы H1 оказывает значительный эффект размер гетеродуплексной части R-петли. Также исследован гидролиз РНК-праймера в составе модельных R-петель под действием РНКазы H1 в присутствии РНК-полимеразы. Показано, что в присутствии РНК-полимеразы гидролиз РНК-праймера в составе модельных R-петель под действием РНКазы H1 протекает медленнее.

\* Исследование выполнено при поддержке РФФ (проект № 23-44-00064).

© Ю. А. Косарев, Н. А. Тимофеева, А. А. Кузнецова, Н. А. Кузнецов, 2024