

Abstrakt

Abazické místo (Ap z angl. Apurinic/apyrimidinic) je jedno z nejrozšířenějších poškození DNA vznikající spontánní hydrolýzou nebo v průběhu DNA opravných procesů. Jedna z forem Ap je otevřený aldehyd s elektrofilní funkční skupinou schopnou vytvářet kovalentní spojení s nukleofilní skupinou komplementárního řetězce DNA. Kovalentní spojení protilehlých řetězců (ICL z angl. Interstrand cross-link) vycházející z Ap je poškození, kde je nepřirozená N-glykosidová vazba tvořena spontánně mezi otevřeným aldehydem a aminovou skupinou adeninu na komplementárním řetězci dvouřetězcové DNA. ICL blokuje replikaci a transkripci, což vede ke genomové nestabilitě, rakovině nebo smrti buňky. Proces vzniku ICL je relativně dlouhý, trvající několik hodin, kde vznik otevřeného aldehydu Ap je limitujícím krokem. Dosud byly popsány dva druhy Ap-ICL v závislosti na bázi, se kterou Ap tvoří kovalentní spojení, ale o sekvenční závislosti v okolí ICL víme jen málo. Cílem této práce je prozkoumat pravděpodobnost vzniku Ap-ICL v závislosti na lokální sekvenci a biochemická charakterizace mechanismů vedoucí k jeho opravě.

Bylo ukázáno, že kovalentní spojení Ap-ICL je štěpeno endonukleasou 8-like III (NEIL3) v eukaryotech a jeho blízký ortholog v bakteriích je formamidopyrimidin-DNA glykosylasa (Fpg), DNA opravný enzym s N-glykosidovou aktivitou schopný vyštěpit oxidované báze a Ap lyasovou aktivitou, schopný štěpit 3'- a 5'-phosphodiesterovou vazbu Ap místa.

Klíčová slova: Abazické místo, NEIL3, Fpg, DNA poškození