

## Жоба туралы қысқаша ақпарат

|                 |   |
|-----------------|---|
| Жоба аты        | ИРН АР13067762 «Күрделі ДНҚ зақымдарын мисматч-спецификалық тимин-ДНҚ-гликозилазамен ынталандырылған эксцизиялық репарациялаудың абберантты жолын <i>in vitro</i> және <i>in vivo</i> зерттеу». 0122РК00080   |
| Жоба өзектілігі | Проект направлен на исследование биосурфактантов аборигенных микроорганизмов месторождений Западного Казахстана для базового понимания процессов нефтеотдачи пластов. Главная идея: подбор аборигенных микроорганизмов, продуцирующих биосурфактанты и оптимальных условий их эффективного применения для уменьшения вязкости остаточной нефти, в целом, увеличения нефтеотдачи пластов зрелых месторождений Западного Казахстана. Перед применением в модельном эксперименте, аборигенные микроорганизмы и их биосурфактанты будут изучены в лабораторных условиях.  |
| Жоба мақсаты    | Молекулярлық деңгейде мисматч- спецификалық тимин-ДНҚ гликозилазамен инициацияланған абберантты негізді эксцизиялық репарациялау (BER) жолына қатысатын механизмдерді <i>in vitro</i> және <i>in vivo</i> сипаттау және абберантты BER -дің тірі жасушаларда индукцияланған ДНҚ зақымдануының әсерінен және спонтанды мутациялар жинақталуындағы физиологиялық рөлін бағалау  |
| Жоба міндеттері | <b>Міндет-1: Әртүрлі ДНҚ негіздерінің модификациялары бар синтетикалық ДНҚ субстраттарын жасау және гомогенді адам TDG ДНҚ гликозилаза белогын тазарту;</b><br>Бірінші міндет - <i>in vitro</i> жағдайында күрделі ДНҚ зақымданулары бар ДНҚ дуплекстеріне абберантты BER жолын бастайтын адамның монофункционалды ДНҚ гликозилаза TDG ферментінің толық биохимиялық сипаттамасын беру. Ол үшін біз мыналарды жобалаймыз: (i) ДНҚ негіздерінің тотыға зақымдалуының кең ауқымын имитациялайтын, әртүрлі химиялық зақымданулары бар, соның ішінде күрделі ДНҚ зақымдануы және әртүрлі конфигурациялары бар синтетикалық олигонуклеотидті субстраттар; (ДНҚ негіздерінің тотыға зақымдалуы, этенобазалар, тізбекаралық ДНҚ кросс байланыстары, G-T және G-G, тізбекішілік ДНҚ кросс-байланыстары, УК өнімдері, аристолактама қосындылары) және (ii) <i>E. coli</i> -ден алынған рекомбинантты тазартылған адамның TDG ақуыздары. Біз адамның TDG кодтайтын cDNA-ларды клондап және оларды <i>E. coli</i> -де экспрессияланады. Тазартылған ақуыздар синтетикалық ДНҚ субстраттары арқылы сипатталатын болады. |

**Міндет-2: Биохимиялық зерттеулер: тазартылған протеин мен синтетикалық ДНҚ субстраттарын қолданып аберрантты репарация жолдарын in vitro қалпына келтіру;**

Екінші міндет- тазартылған ДНҚ гликозилазаны пайдаланып аберрантты ДНҚ репарацияның in vitro талдауын қалпына келтіру болып табылады. ДНҚ-ны қалпына келтіру ферменттерінің әсер етуінің молекулалық механизмін толық зерттеу үшін радиоактивті таңбаланған синтетикалық ДНҚ субстратын және денатуирлеуші гельді электрофоретикалық талдауды қолданамыз. Тәжірибелерді орындамас бұрын әрбір ақуыздың белсенділігі оның классикалық ДНҚ субстраты арқылы тексеріледі. ДНҚ репарациясының тиімділігі ДНҚ өнімдерін денатурациялаушы PAGE көмегімен талдап, Турноон FLA 9500 жүйесін пайдалана отырып, фосфорды бейнелеу арқылы өлшенеді. Біздің француз әріптестеріміздің талдаудың бұл түрін орындауда көп жылдық тәжірибесі бар.

**Міндет-3: Тірі жасушаларда TDG бастаған аберрантты BER сипаттамасын беру.**

Үшінші міндет – адамның монофункционалды ДНҚ гликозилазасы TDG экспрессиялаушы *S. cerevisiae* және *E. coli* штамдарының генотоксикалық стресіне жасушалық жауаптарын сипаттау. Осы тапсырманың бөлігі ретінде біз ашытқылар мен бактериялық жасушаларды ДНҚ зақымдаушы өңдеулерге ұшыратамыз, соның ішінде аристолохия қышқылы (dA-Ali I және II түзу үшін), хлорацетоальдегид (этенобазаны қалыптастыру үшін), метилметансульфонат, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ультракүлгін сәуле және ДНҚ кросс- байланыстырушы агенттер. Өңдеуден кейін біз мутация жылдамдығын өлшейміз және мутация профильдерін сипаттаймыз және оларды жабайы типтегі және өңделмеген жасушалармен салыстырамыз. Мутациялардың жиілігі мен табиғаты арасындағы айырмашылықтар мутацияларды орнатудағы аберрантты жөндеудің рөлін анықтауға және мисматч- спецификалық монофункционалды ДНҚ гликозилазаларымен индукцияланған мутациялар спектрін in vivo сипаттауға мүмкіндік береді.

Қорытындылай келе, биохимиялық және генетикалық тәсілдерді қолдана отырып, біз ДНҚ гликозилазасынан туындаған аберрантты BER жолына қатысатын механизмдерді молекулалық деңгейде ашуға және сипаттауға тырысамыз. Сонымен қатар, жасушаларда аберрантты репарациясын тудыруы мүмкін ДНҚ зақымдануларын анықтау қартаю және дегенеративті аурулармен байланысты қоршаған орта және генетикалық факторлар туралы механикалық түсінік

|  |   |
|--|---|
|  | береді, сондықтан алдын алу мен терапияның жаңа стратегияларын жасауға көмектеседі  |
| Күтілетін және қол жеткізілген нәтижелер   | <p>Осы жобадa шешуге жоспарланған міндеттер <i>in vitro</i> және <i>in vivo</i> жағдайында күрделі ДНҚ зақымдануының мисматч-спецификалық TDG-гликозилазамен басталған аберрантты эксцизиялық репарация жолының молекулалық механизмін жақсырақ түсінудің алғашқы әрекеті болып табылады. Тапсырмаларды орындау адамның жасқа байланысты ауруларының механизмдері мен емдеу мәселелеріне бірегей бұрыштан қарауға мүмкіндік береді. Атап айтқанда, келесі нәтижелерге қол жеткізуді жетістік деп санауға болады:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>i. Құрамында күрделі ДНҚ зақымданулары бар синтетикалық ДНҚ субстраттарының құрылысы;</li> <li>ii. Адамның гомогенді TDG гликозилазасын және оның белсенді сайт мутанттарын тазарту және сипаттау;</li> <li>iii. Мутацияның фиксациясына әкелетін зақымдалмаған ДНҚ тізбегінің TDG гликозилаза арқылы аберрантты репарациясының биохимиялық дәлелдерін алу үшін <i>in vitro</i> ДНҚ репарациясын қайта құру;</li> <li>iv. Адамның монофункционалды TDG ДНҚ гликозилазасын шамадан тыс экспрессиялайтын генетикалық түрлендірілген бактериялық және ашытқы жасушаларының құрылысы;</li> <li>v. Модификацияланған бактериялар мен ашытқы жасушаларының генотоксикалық стресіне жасушалық жауабының сипаттамасы.</li> <li>vi. Тірі жасушалардағы күрделі ДНҚ зақымдануының аберрантты репарациясы салдарынан туындаған мутация спектрлерінің сипаттамасы.</li> </ul> |
| Зерттеу тобы мүшелерінің аты-жөні, идентификаторлары (Scopus Author ID, Researcher ID, ORCID, бар болса) және сәйкес профильдерге сілтемелер | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Тайпақова Сәбира Мықтыбекқызы, Ph.D. доцент. Хирш Индексі - 6, <a href="https://orcid.org/0000-0001-9499-1682">https://orcid.org/0000-0001-9499-1682</a>. Scopus ID: 47062012700. WoS ID: AAW-9635-2020</li> <li>2. Жолдыбаева Ботагөз Сердалыевна, Ph.D. Аға ғылыми қызметкер.. Хирш Индексі -2. <a href="https://orcid.org/0000-0003-1682-4947">https://orcid.org/0000-0003-1682-4947</a> Scopus ID: 56147051300</li> <li>3. Манапқызы Диана, магистр. Младший научный сотрудник. <a href="https://orcid.org/0000-0003-3371-4459">https://orcid.org/0000-0003-3371-4459</a>.</li> <li>4. Байкен Елдар магистр. Ph.D. кандидат. Ғылыми қызметкер.. Хирш Индексі -7. ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0003-1742-2536">https://orcid.org/0000-0003-1742-2536</a>. Scopus ID: 55573387800</li> <li>5. Қуанбай Айгерім Құрманбекқызы. Ph.D. Кіші ғылыми қызметкер. Хирш Индексі -1 <a href="https://orcid.org/0000-0001-6509-4085">https://orcid.org/0000-0001-6509-4085</a> Scopus ID: 57222715698</li> </ol>   |

|   |   |
|---|---|
| Жарияланымдар тізімі (URL, DOI көрсетілген) | <p><b>1. <u>Taipakova S.</u></b>, Kuanbay A., Saint-Pierre C. , GasparuttoD., Baiken Y., Groisman R., Ishchenko A.A., Saparbaev M., Bissenbaev A.K., The <i>Arabidopsis thaliana</i> Poly(ADPRibose) Polymerases 1 and 2 Modify DNA by ADP-Ribosylating Terminal Phosphate Residues//Frontiers in Cell and Developmental Biology. –2020. –Vol.8. 606596. Citation-3, Q1, IF-5.18, Процентиль: 21, SJR-2.572 DOI: 10.3389/fcell.2020.606596</p> <p>2. Baiken, Y., Kanayeva, D. <b><u>Taipakova, S.</u></b> Groisman, R. Ishchenko, A.A. Begimbetova, D. Matkarimov, B. Saparbaev, M. Role of Base Excision Repair Pathway in the Processing of Complex DNA Damage Generated by Oxidative Stress and Anticancer Drugs // Frontiers in Cell and Developmental Biology. – 2021. –Vol. 8. 617884. Citation-3, Q1, IF-5.18, Процентиль: 21, SJR-2.572 DOI: 10.3389/fcell.2020.617884 (Соавтор)</p> <p>3. <b><u>Taipakova S.M.</u></b>, Smekenov I.T., Saparbaev M.K., Bissenbaev A.K. Characterization of <i>Aspergillus niger</i> endo-<math>\beta</math>-1,4-glucanase ENG1 secreted from <i>Saccharomyces cerevisiae</i> using two different expression vectors// Genet.Mol.Res. -2015. - Vol.14,№2. -P.6439-6452. Citation-2, Q2(SJR-1.1), Procentile-16%. DOI:10.4238/2015.June.11.20</p> <p>4. Akishev Zh., <b><u>Taipakova S.</u></b>, Joldybayeva B., Zutterling C., Smekenov I., Ishchenko A., Zharkov D., Bissenbaev A., Saparbaev M. The major <i>Arabidopsis thaliana</i> apurinic-apyrimidinic endonuclease, ARP is involved in the plant nucleotide incision repair pathway// DNA repair. -2016. -Vol.48. -P.30-42. Citation-10, Q1(SJR-2.22), Procentile-71%. DOI:10.1016/j.dnarep.2016.10.009</p> <p>5. Bazlekowa-Karaban M., Prorok P., Baconnais S., <b><u>Taipakova S.</u></b>, Akishev Z., Zembrzuska D., Popov A.V., Endutkin A.V., Groisman R., Ishchenko A.A., Matkarimov B.T., Bissenbaev A., et al. Mechanism of stimulation of DNA binding of the transcription factors by human apurinic/apyrimidinic endonuclease 1, APE1// DNA repair. –2019. –Vol.82. - №102698. Citation-1, Q1(SJR-2.22), Procentile-71%. <a href="https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2019.102698">https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2019.102698</a>.</p> |
| Патент туралы ақпарат                       | Тайпакова С.М., Сmekенов И.Т., Бисенбаев А.К. Пайдалы модельге Қазақстан Республикасының патенті «Ашытқы жүйесінде генді экспрессиялау үшін интегративті плазмидтік вектор», тіркеу No 2017/0230.2.   |