

ПРОФИЛИ ФИЗИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК РЕГУЛЯТОРНЫХ УЧАСТКОВ ГЕНОМА

Ильичева И.А.¹, Урошлев Л.А.², Абдуллаев Э. Т.³, Попцова М.С.⁴, Панченко Л.А.⁵,
Полозов Р.В.⁶, Гроховский С.Л.¹, Нечипуренко Ю.Д.¹

¹Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН,
119991, Москва, ул. Вавилова, 32, e-mail: nech99@mail.ru;

²Институт Общей Генетики им. Вавилова РАН., 119991, Москва, ул. Губкина, 3,
e-mail: leoniduroshlev@gmail.com

³Институт молекулярной генетики им. Макса Планка, 14195, Берлин, Германия

⁴Физический факультет МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 2.

⁵Биологический факультет МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12

⁶Институт Теоретической и экспериментальной биофизики, Пущино, 142290

Целью нашей работы является поиск общих физико-химических характеристик участков разрывов ДНК, при воздействии ультразвуком. В работе проведен анализ большого числа физических и структурных характеристик ДНК, усредненных по репрезентативным выборкам из разных видов для животных, растений и различных прокариот. В дополнении к известным динуклеотидным характеристикам ДНК мы впервые построили индексы, характеризующие расщепление ДНК ультразвуком. Эти индексы несут информацию о свойствах отдельных нитей молекулы ДНК. Особые свойства обнаруживаются для ДНК из многоклеточных организмов в области, которая соединяет ТАТА бокс и начало сайта инициации транскрипции (TSS). Мы связываем их с интенсивностью конформационных движений, которая меняется в противофазе вдоль ДНК. Это видно лучше всего для ДНК из клеток млекопитающих. Обнаруженные нами физико-химические свойства ДНК могут быть использованы, как в теоретических исследованиях, так и при диагностике заболеваний. Мы рассмотрели расщепление метилированных и неметилированных динуклеотидов в тканях человека, растений и бактерий, а также состояние CpG-островов в контрольных и раковых тканях (лимфоме и гепатокарциноме). Было показано, что метилированные CpG-участки расщепляются значительно чаще аналогичных неметилированных участков. Более того, было установлено различие в расщеплении CpG-островов в раковых и контрольных образцах.

При анализе продуктов ультразвукового расщепления рестриктных фрагментов ДНК с помощью электрофореза в полиакриламидных гелях нами было обнаружено явление специфичности такого расщепления: частота (вероятность) двунитевых разрывов зависит от последовательности нуклеотидов [1]. Было показано, что частота разрывов зависит также от температуры, pH и ионной силы раствора, но не зависит от используемой частоты ультразвука. Наиболее часто двойная спираль разрывается по динуклеотиду d(CpG). Было обнаружено, что фосфатная группа остается на 5'-конце образующихся фрагментов, а характер процесса имеет черты механохимической реакции. Позже мы показали, что при разрыве двухспиральной ДНК при помощи ультразвука частоты разрыва цепи зависят от последовательности нуклеотидов [2,3]. В результате проведенного анализа 5'-концевых участков фрагментов, выровненных на соответствующие референтные геномы, мы обнаружили, что частоты разрывов разных ди- и тетрануклеотидов на концах фрагментов находятся в хорошем соответствии с данными ультразвукового расщепления ДНК. Частоты ультразвукового расщепления можно использовать для физического картирования генома, то есть определения участков, имеющих аномалии по ряду физических характеристик. Эти аномалии связаны, как правило, с регуляторными участками генов [4]. Так же значительную роль играет метилирование отдельных нуклеотидов, а так же CpG-островов.

В работе было рассмотрено также расщепление метилированных и неметилированных динуклеотидов в тканях человека, растений и бактерий, а также состояние CpG-островов в контрольных и раковых тканях (лимфоме и гепатокарциноме). Было показано, что метилированные CpG-участки расщепляются значительно чаще аналогичных неметилированных участков. Более того, было установлено различие в CpG-островах в раковых и контрольных образцах.

Список литературы:

1. Гроховский С.Л., Ильичева И.А., Нечипуренко Д.Ю., Панченко Л.А., Полозов Р.В., Нечипуренко Ю.Д. / Биофизика 2008, Т.53, С. 417-425.
2. Нечипуренко Ю.Д., Головкин М.В., Нечипуренко Д.Ю., Ильичева И.А., Панченко Л.А., Полозов Р.В., Гроховский С.Л. / Журнал структурной химии 2009, Т. 50, С.1040-1047.
3. Sergei L. Grokhovskiy, Irina A. Il'icheva, Dmitry Yu. Nechipurenko, Michail V. Golovkin, Larisa A. Panchenko, Robert V. Polozov and Yury D. Nechipurenko / Biophysical Journal, 2011, Vol.100, N1, P.117-125.
4. Il'icheva I.A., Khodikov M.V., Poptsova M.S., Nechipurenko D.Yu., Nechipurenko Yu.D., Grokhovskiy S.L. Structural features of DNA that determine RNA polymerase II core promoter. BMC genomics 17, 973 (2016).