

**И. А. Ильичева, Л. А. Панченко, Д. Ю. Нечипуренко, М. В. Головкин, Ю. Д. Нечипуренко, Р. В. Полозов, С. Л. Гроховский** (Москва, ИМБ РАН, МГУ, Пущино, ИТЭБ РАН). **Позиционные эффекты и эффекты последовательности при ультразвуковом расщеплении ДНК.**

Экспозиция растворов ДНК в ультразвуковом поле приводит к нарушению целостности макромолекулы. В зависимости от интегральной интенсивности облучения и от физико-химических свойств раствора возможна как фрагментация, так и полная деградация структуры ДНК [1]–[3].

Для получения данных о фрагментации ДНК под действием ультразвука нами был использован метод электрофореза в денатурирующем полиакриламидном геле. Ультразвук воздействовал на образцы двухспиральной ДНК с известной последовательностью длиной несколько сотен пар нуклеотидов. Образцы содержали радиоактивную метку на 3'-конце одной из цепей. После денатурации реакционные смеси наносили на гель. Электрофорез и последующие процедуры экспонирования, сканирования и цифровой обработки изображений дают результаты в виде массивов данных, соответствующих отдельным дорожкам геля. При количественном анализе картин электрофореза высокого разрешения, содержащих большое число полос, важным этапом является учет позиционного эффекта — зависимости интенсивности полосы от ее положения в геле.

Заметное снижение интенсивности расщепления на концах полимера есть следствие эластичности ДНК. Поэтому для оценки возможного влияния последовательности на степень расщепления мы использовали два метода: а) скользящего среднего; б) описания функции позиционной зависимости полиномом третьей степени [4].

Показано, что частоты расщепления динуклеотидов, полученные при помощи этих методов, различаются незначительно. Анализ расщепления последовательностей ДНК общей длиной более 20 тысяч нуклеотидов позволил установить относительные частоты разрывов связей всех 16 динуклеотидов и всех 256 тетрануклеотидов.

Статистический анализ данных показал, что достоверными являются следующие утверждения. 1. Степень расщепления динуклеотидов с 5'-концевым цитозином, статистически значимо превышает степень расщепления всех остальных динуклеотидов и убывает в ряду  $CpG > CpA \approx CpT > CpC$ . 2. Степень расщепления всех 16 динуклеотидов зависит от нуклеотидов фланкирующих их с обоих концов. Наиболее интенсивные расщепления происходят в центральной позиции тетрануклеотида  $dGdCdGdA$ . 3. Степени расщепления комплементарных динуклеотидов различаются.

Работа поддержана РФФИ, проект 08-04-01739а.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гроховский С. Л. Специфичность расщепления ДНК ультразвуком. — Молекулярная биология, 2006, т. 40, № 2, с. 317–325.
2. Rageh M. M., El-Lakkani A., Ali M. H. M., Abd El-Fattah A. M. M., El-Ghreeb Raafat A. Effect of high power ultrasound on aqueous solution of DNA. — Int. J. Phys. Sciences, 2009, v. 4, № 2, p. 63–68.
3. Гроховский С. Л., Ильичева И. А., Нечипуренко Д. Ю., Панченко Л. А., Полозов Р. В., Нечипуренко Ю. Д. Локальные неоднородности структуры и динамики двуспиральной ДНК: исследование при помощи ультразвука. — Биофизика, 2008, т. 53, в. 3, с. 417–425.
4. Нечипуренко Ю. Д., Полозов Р. В., Нечипуренко Д. Ю., Ильичева И. А., Воробьев Е. А., Гроховский С. Л., Гурский Г. В. Математические модели регуляции экспрессии генов: механические возмущения структуры ДНК. — В сб. научных трудов «Математика. Компьютер. Образование (Регулярная и хаотическая динамика)». Москва–Ижевск: НИЦ, 2006, т. 2, с. 392–402.