

**И. А. Ильичева, Д. Ю. Нечипуренко, Л. А. Панченко, Р. В. Полозов, М. В. Головкин, Ю. Д. Нечипуренко, С. Л. Гроховский** (Москва, ИМБ РАН, МГУ, Пушкино, ИТЭБ РАН). **Влияние локальной структуры ДНК на вероятность ультразвукового расщепления ее фрагментов in vitro.**

Регуляции процессов биосинтеза в клетке определяется гетерогенностью структурно-динамических характеристик ДНК, благодаря которой регуляторные белки и факторы транскрипции узнают маркерные участки генома. Для эффективного физического картирования генома (т. е. выявления таких маркерных последовательностей) необходимо использовать данные большого числа физико-химических методов, способных выявить гетерогенность различных физико-химических свойств ДНК.

Ранее нами был предложен и развит метод исследования структуры двойной спирали ДНК, основанный на расщеплении ее сахарофосфатного остова под действием ультразвука. Общая длина проанализированных последовательностей составила более 20 тысяч пар нуклеотидов. Это позволило нам определить относительные частоты расщепления фосфодиэфирных связей в центре каждого из 256 тетра nukлеотидов. Статистический анализ выявил зависимость между относительной частотой разрыва центральной связи во всех возможных ди- и тетра nukлеотидах и их нуклеотидной последовательностью.

Полученные нами базы данных ультразвукового расщепления ди- и тетра nukлеотидов в двойной спирали ДНК (<http://groh.ru/imb>) могут быть эффективно использованы для физического картирования генома наряду с базами данных свободно-радикального расщепления и расщепления ДНК-азой I. Физическая природа наблюдаемой гетерогенности ультразвукового расщепления двойной спирали ДНК пока не вполне понятна из-за многокомпонентности системы (облучение ультразвуком растворов фрагментов ДНК вызывает кавитацию жидкости). Мы сопоставили наши данные по ультразвуковому расщеплению ДНК с результатами, полученными методами ЯМР и молекулярной динамики. Оказалось, что интенсивность интерконверсии в цикле дезоксирибозы на 5-конце динуклеотида может явиться тем специфическим фактором, который определяет зависимость от нуклеотидной последовательности ультразвукового расщепления в ДНК. Ее соотношения в разных тетра nukлеотидах, качественную оценку которых можно получить на основании данных ЯМР, соответствуют полученным нами соотношениям интенсивностей ультразвукового расщепления в свободной ДНК.

Исследование ультразвукового расщепления фрагментов ДНК, связанных с катионами переходных металлов  $Ag(I)$ ,  $Cu(II)$ ,  $Hg(II)$ , в свою очередь, показало, что каждый из них может вызвать два принципиально различных варианта искажения двойной спирали: уменьшение интенсивности расщепления наблюдается в тех случаях, когда катионы связываются по широкой бороздке ДНК; увеличение интенсивности расщепления происходит при возникновении конформационных напряжений в нуклеотидах в результате встраивания катионов в водородные связи комплементарных пар

или в результате интеркаляции катиона. Оба типа деформации структуры ДНК способны повлиять на интенсивность псевдовращения дезоксирибозы.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гроховский С. Л., Ильичева И. А., Нечипуренко Д. Ю., и др. Локальные неоднородности структуры и динамики двуспиральной ДНК: исследование при помощи ультразвука. — Биофизика, 2008, т. 53, в. 3, с. 417–425.
2. Grokhovsky S. L., Il'icheva I. A., Nechipurenko D. Yu. et al. Sequence-Specific Ultrasonic Cleavage of DNA. — Biophysical J., 2011, v. 100, p. 117–125.
3. Grokhovsky S., Il'icheva I., Nechipurenko D. et al. Quantitative analysis of electrophoresis data: application to sequence-specific ultrasonic cleavage of DNA. — In the book: Gel Electrophoresis, Book 1. ISBN 979-953-307-474-9 (2012).