

УДК 577

Огнева И.В. (5 курс, каф. БФ), Е.Л.Паткин, д.б.н. (ИЭМ РАМН)

## ВЫДЕЛЕНИЕ МИНИСАТЕЛЛИТА UPS29 ЧЕЛОВЕКА И КЛОНИРОВАНИЕ ЕГО ГОМОЛОГОВ

Функция тандемных повторов, в геноме человека остается неясной, хотя и были обнаружены белки, специфично связывающиеся с ди- и тринуклеотидными повторами. В последние годы обнаружено уникальное свойство тринуклеотидных повторов вызывать целый ряд нейромышечных и нейродегенеративных наследственных заболеваний (синдром фрагильной X-хромосомы, болезнь Хантингтона), обусловленных, видимо, экспансией микросателлитных последовательностей. Кроме того, есть сведения, указывающие на подобные изменения и минисателлитной (МС) ДНК, приводящие к формированию эпилепсии, INS-VNTR диабету, миотонической дистрофии и спонтанной эмбриональной летальности. Целью работы было выделение GC-богатого (МС) человека и клонирование его гомологов у лабораторных животных. Для этого использовали космиду, в которой клонирован образец человеческой ДНК размером 34175 п.н. (полностью секвенирован). После анализа этой последовательности (П) с помощью программы SEQUIN (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Sequin/index.html>) выяснилось, что в космиде присутствуют два гена. Первый ген - Human amiloride sensitive sodium channel delta subunit (dNaCh) - хорошо изучен. Его кодирующая (П) распределена в тринадцати экзонах. В интроне, находящемся между 7-ым и 8-ым экзонами есть гипермутабельный (МС) CEB15, который преимущественно нестабилен по отцовской линии (частота мутирования в мужских половых клетках составляет  $\approx 15\%$ ). Второй ген (ген2), находящийся в космиде, принадлежит, видимо, к тому же генному семейству, что и ген dNaCh, но практически не изучен. Ген2 сходен с геном dNaCh тем, что в одном из интронов имеет ранее не изучавшийся (МС) UPS29. С помощью пакета программ LaserGene нами был проведен анализ (П) (МС) UPS29, в частности были найдены рестриктазы, которые не расщепляют данный (МС).

Для моделирования эндогенной нестабильности (МС) ДНК было необходимо выяснить, используя банки данных EMBL и GeneBank, имеет ли (МС) UPS29 гомологи в других организмах, а для экзонов, фланкирующих интрон, содержащий (МС) использовали базы данных EST. Для нескольких экзонов гена2 (в том числе (МС) фланкирующих UPS29) у *Mus musculus* найдена (П), которая экспрессируется в гипоталамусе и имеет мРНК размером 322 п.н. При этом уровень гомологии составил 86%. В связи с этим предположили, что (П) интронов, тоже гомологичны, следовательно, у *Mus musculus*, возможно, есть (МС) UPS29. Поэтому к мышине (П), гомологичной экзонам, фланкирующим (МС) UPS29 человека, были подобраны с помощью программы PRIMER3 ([http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3\\_www.cgi](http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3_www.cgi)) и синтезированы ПЦР-праймеры. Используя полимеразную цепную реакцию (ПЦР) был получен продукт амплификации такого же размера, как и ожидаемый для UPS29 человека. С целью проверки и оценки уровня гомологии анализируемых (П) мыши и человека, а также для выделения человеческого UPS29 провели дот- и Саузерн-блот-гибридизацию, нами модифицированную: менее жесткие условия гибридизации и постгибридизационных отмывок. Эти условия были подобраны экспериментально и могут использоваться не только в данном случае, но и вообще в случае гомологии меченого зонда и ДНК-мишени на уровне 50-80%, при этом не возникают неспецифическое связывание и гибридационный фон.

*Работа поддержана федеральной целевой программой "Интеграция" № 354  
("Фундаментальные проблемы молекулярной биологии и медицинской физики")*