

УДК 577.122

Федоров А.В. (4 курс, каф. БФ), Д.В.Лукьянов (ИнЦ РАН)

ИДЕНТИФИКАЦИЯ БЕЛКОВСПЕЦИФИЧЕСКИ СВЯЗЫВАЮЩИХ РЕТРОПОЗОНОВЫЕ ПОВТОРЫ ТИПА LINE

Значительную часть некодирующей ДНК эукариот составляют повторяющиеся последовательности нуклеотидов различных типов. Они имеют длину 5-7 т.п.н. и составляют около 10% генома. Один из них LINEs (Long Interspersed Nuclear Elements) обнаруженные и у млекопитающих, имеют сходное строение, содержат по крайней мере две открытые рамки считывания (ОРС), а также 5' и 3' не транслируемые участки (5'UTR и 3'UTR). По структуре их относят к ретропозонам, они способны "перемещаться" по геному с помощью механизма обратной транскрипции.

Функции LINEs в организации генома эукариот пока не ясны. Существуют несколько гипотез о биологической роли этих элементов ДНК. Их ОРС кодируют белок – возможно обратную транскриптазу, но неизвестно используется ли она только для пролиферации самого повтора или её наличие необходимо также клетке-хозяину. Вообще ретропозоны могут воздействовать на уровень экспрессии генов клетки хозяина, встраиваясь в них, например, некоторые гены в раковых клетках содержат встроенные LINEs, в то время как гены нормальных клеток не содержат такие инсерции. Уровень экспрессии LINEs в опухолях выше, чем в нормальных клетках т.е. должны быть механизмы, регулирующие экспрессию этих элементов в различных клетках.

Есть предположения об участии LINEs в процессах репарации и рекомбинации ДНК, узнавания гомологичных хромосом в начальной стадии мейоза и межвидового переноса генетического материала. Если LINEs кодируют обратную транскриптазу, то возможно она участвует в процессе транспозиции пассивных ретропозонов.

Один из методов, позволяющих понять назначение той или иной ДНК – найти и охарактеризовать белки, специфически ее связывающие. На данный момент в лаборатории идентифицирован белок с молекулярной массой 29Кд из нуклеоплазмы клеток печени крысы, который специфически связывает 5'UTR LINEs. Работа посвящена исследованию этого белка. Первой задачей является идентификация его сайта связывания. путем футпринтинга и синтетических олигонуклеотидов, что дает возможность очищать белок методом аффинной хроматографии. Вторая задача – получение антител на данный белок.

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