

**УДК 577.213.7**

**И.В.Огнева (6 курс, каф. БФ), Е.Л.Паткин, д.б.н., зав. лаб. (ВНИИЭМ РАМН)**

## **ИССЛЕДОВАНИЕ НОВОГО МИНИСАТЕЛЛИТА UPS29 ЧЕЛОВЕКА И ЕГО МЫШИНОГО ГОМОЛОГА**

Функции тандемных повторов в норме в геномах различных организмов остаются до сих пор непонятными. Однако актуальность изучения таких последовательностей связана с их вовлечением в возникновение и развитие целого ряда нейродегенеративных и нейромышечных заболеваний, а также спонтанной эмбриональной летальности, инсулин-зависимого диабета и некоторых видов рака. Целью данной работы являлось исследование нового минисателлита UPS29 человека и его мышинового гомолога. Работа была разделена на два этапа: теоретический и экспериментальный, причем задачей эксперимента была проверка некоторых предположений, сделанных после проведения теоретического исследования.

Минисателлит UPS29 человека находится в интроне неизвестного пока гена (далее по тексту – ген2). В том же локусе первой хромосомы находится ген дельта-субъединицы амилорид-чувствительного натриевого канала (ген dNaCh). Последовательность гена2 и минисателлита UPS29 была проанализирована с целью выявления возможных функций и особенностей структуры. Последовательность гена2 имеет частичную гомологию с последовательностью гена дельта-субъединицы амилорид-чувствительного натриевого канала и, поскольку локализованы эти гены в одном и том же локусе первой хромосомы человека, то можно предположить, что ген2 принадлежит к тому же генному семейству или играет роль в том же процессе, что и ген dNaCh. В гипотетической аминокислотной последовательности белка, кодируемого геном2 найдены следующие особенности структуры: плекстриновые домены, анкириновые повторы, а также домены, аналогичные доменам G-белков и содержащие цинковые пальцы. Возможно белок, кодируемый геном2 участвует в каком-то сигнальном пути, связанном с данным натриевым каналом.

В последовательности гена2 сайты для топоизомеразы I встречаются примерно через каждые 200 п.н., что соответствует одному витку ДНК вокруг нуклеосомы. В последовательности минисателлита UPS29, размер которого составляет 745 п.н., обнаружено 4 таких сайта. К тому же, ген2 находится в локусе хромосомы, который окрашивается как R-бэнд, что соответствует транскрибируемому району. Это позволяет предположить, что ген2 активно транскрибируется.

Интрон, в котором локализован минисателлит UPS29, имеет сильно вырожденные последовательности 5'- сайта сплайсинга и BPS, что может свидетельствовать о том, что мРНК гена2 подвергается альтернативному сплайсингу, который может регулироваться определенной вторичной структурой минисателлита, находящегося в этом интроне.

Особенности последовательности минисателлита UPS29 могут являться причиной образования альтернативных вторичных структур в ДНК и мРНК. Наличие палиндромных последовательностей в UPS29 может приводить к образованию шпилечных структур в мРНК, которые, в свою очередь, могут регулировать активность трансляции мРНК гена2 и/или регулировать альтернативный сплайсинг.

Образование крестообразных структур в ДНК несколько затруднено из-за энергетических ограничений, но тем не менее существует вероятность их формирования. Такие струк-

туры во время репликации ДНК обычно приводят к проскальзыванию ДНК-полимеразы, что является причиной экспансии повторов.

Явная нитевая асимметричность последовательности минисателлита UPS29 дает возможность образования трактов Z-формы ДНК, которые чередуются с трактами В-формы, что может приводить к частичной релаксации ДНК и увеличению вероятности образования крестообразных структур. Сама Z-ДНК часто инициирует возникновение сестринских хроматидных обменов, то есть внутриаллельной рекомбинации, что является причиной экспансии повторов.

Наличие в последовательности UPS29 большого числа сайтов, гомологичных различным горячим точкам рекомбинации, позволяет предположить, что минисателлит UPS29 является гипермутабельным вследствие частой инициации рекомбинации. К экспансии повторов приводит, как внутри, так и межаллельная рекомбинация, но для возникновения межаллельной рекомбинации необходим гомолог минисателлита в другом локусе генома. Поэтому был проведен поиск последовательностей в геноме человека, которые гомологичны UPS29. Таких последовательностей обнаружено не было, что позволяет сделать вывод о том, что UPS29 не вовлечен в межаллельную рекомбинацию.

Минисателлит UPS29 является GC-богатым, что может формировать определенный паттерн метилирования, необходимый для регуляции активности гена<sup>2</sup>. Найдено 27 сайтов для рестриктаз-изошизомеров MspI/HpaII, что в дальнейшем позволяет экспериментально определить уровень метилирования UPS29.

*Выводы.* Экспериментальный анализ аллельных вариантов минисателлита UPS29 человека показал, что имеются как минимум три аллели в геноме. В качестве объекта изучения в данном случае использовалась ДНК, выделенная из крови. Тканеспецифический анализ аллельных вариантов у мыши показал отличия в размере аллелей между разными органами. Так, более длинные аллели были обнаружены в среднем мозге, продолговатом мозге, мозжечке, семенниках, костном мозгу, в почках и в хвосте. Возможно, такие аллельные различия имеют функциональную значимость в альтернативном сплайсинге гена<sup>2</sup>, что в свою очередь имеет значение для избирательного проведения сигнала от амилорид-чувствительного натриевого канала.