

УДК 616-057.7:616.153.922

Д.М.Шубина (6 курс, каф. БФ), И.О.Сучкова, к.б.н., ГУ НИИЭМ РАМН

## НЕСТАБИЛЬНОСТЬ РЕКОМБИНАНТНОЙ ПЛАЗМИДЫ pUC19-UPS29, СОДЕРЖАЩЕЙ МИНИСАТЕЛЛИТ ЧЕЛОВЕКА UPS29

К настоящему времени в геноме человека идентифицировано около 1500 минисателлитов, многие из которых являются GC-богатыми и характеризуются гипервариабельностью [1-3].

В Отделе молекулярной генетики ГУ НИИЭМ РАМН продолжены исследования GC-богатого минисателлита человека UPS29. Компьютерный анализ с помощью программы BLAST, а также пакета программ LaserGene показал, что UPS29 человека содержит большое количество районов, гомологичных некоторым рекомбинационным мотивам. Кроме того, было показано, что данный минисателлит имеет несколько аллельных вариантов. Все эти характеристики UPS29 говорят о его возможной гипервариабельности [4-7].

Цель данной работы состояла в том, чтобы проверить нестабильность рекомбинантной плазмиды pUC19-UPS29, содержащей минисателлит UPS29, в клетках *E.coli* DH5 $\alpha$ .

Было обнаружено, что после трансформации клеток *E.coli* DH5 $\alpha$  конструкцией pUC19-UPS29, все трансформанты несли рекомбинантные плазмиды, размер которых либо соответствовал размеру исходного вектора pUC19, либо был меньше. С помощью реакции X-gal и IPTG было показано, что все трансформанты являются *lacZ*. По-видимому, в данных конструкциях наблюдалась склонность к выщеплению всей вставки UPS29 или ее части, которое сопровождалось нарушениями в гене *lacZ* вектора pUC19.

Был проведен тест на УФ-чувствительность исходного штамма *E.coli* DH5 $\alpha$  и полученных трансформантов, чтобы исключить возможность активации белка RecA, который стимулирует рекомбинацию ДНК в клетках. Оказалось, что использованный для трансформации штамм DH5 $\alpha$  имеет частоту выживаемости на два порядка ниже, чем штамм RecA<sup>+</sup> (*E.coli* BL21(DE3)), что подтвердило отсутствие RecA-активности как в штамме *E.coli* DH5 $\alpha$ , так и в полученных трансформантах. Этот результат говорит в пользу того, что в полученных трансформантах имела место RecA – независимая рекомбинация, причиной которой мог являться UPS29. Его нестабильность в прокариотических клетках может объясняться особенностями нуклеотидного состава исследуемого минисателлита, а именно тем, что UPS29 содержит районы, гомологичные некоторым рекомбинационным мотивам, в частности *Chi*-сайту *E.coli*.

Работа поддержана грантами РФФИ № 04-04-48169 и Президента РФ № МК-2182.2003.04

### ЛИТЕРАТУРА:

1. Гайцхоки В.С., Паткин Е.Л., (2000), Генетика, 36 (9): 1189-1194.
2. Buard J., Vergnaud G., (1994), EMBO J., 13: 3293-3210.
3. Buard J. and Jeffreys A.J., (1997), Nat. Genet., 15: 327-328.
4. Ogneva I., Suchkova I., (2001), Eur. Journal of Human Genetics, 9: 238-239.
5. Никитина Н.Я., Сломинская Н.А., Кустова М.Е., Сучкова И.О., (2002), “Человек и его здоровье”: 5-я Всероссийская медико-биологическая конференция молодых исследователей. Тезисы докладов, 180-181.

6. Никитина Н. Я., Сасина Л. К., Марышева Т. М., Сучкова И.О., Сломинская Н. А., Паткин Е. Л., (2003), "Вчені майбутнього": Міжнародна науково-практична конференція молодих вчених. Тези доповідей, 4-5.
7. Никитина Н.Я., Сучкова И.О., (2004), XXXII Неделя науки СПбГПУ: Материалы межвузовской научно – технической конференции. Ч. IV: 80-81.