

## Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

### Обнаружение повреждений молекул ДНК по изменениям их механических параметров

*Мусабек Даурен*

*Студент*

*Евразийский национальный университет имени Л. Н. Гумилёва,*

*Физико-технический факультет, Астана, Казахстан*

*E-mail: mus.dauren@gmail.com*

Молекула клеточного ДНК в результате воздействия различных внутренних и внешних воздействий способна испытать до миллиона повреждений в день. В большинстве случаев повреждения ДНК, химически изменяются основания за счет не природно-свойственных химических связей или продуктов присоединения[1]. Химические модификации (изменения) могут видоизменить конфигурацию двойной спирали молекулы ДНК.

При экзогенном воздействии речь пойдет о структурных повреждениях в молекуле, вызывающих разрыв, сшивку, расплетение и разветвление цепей ДНК. Исследование механизмов радиационного повреждения молекул ДНК представляет особый интерес в изучении радиационного отклика, устойчивости и рекомбинационной способности молекул ДНК. Поглощение молекулой дискретной порции энергии, ее миграция в молекуле или между молекулами, приводящая к скоплению энергии в определенном участке молекулы, и полученное, как результат, структурное повреждение может привести к определенному типу разрыва. В общем случае это приводит к структурным изменениям в молекуле.

Существующая на данный момент классификация повреждений различает: одно- (single strand break, SSB) и двунитевые разрывы (double strand break, DSB), молекулярные поперечные сшивки (cross links CL) и разветвленные цепи вследствие суммарного эффекта одно- и двунитевых разрывов (за счет присоединения обломков молекулы, образовавшихся в результате двунитевого разрыва, к местам однострунчатых разрывов в цепях ДНК)[2].

В ходе исследования была изучена ДНК рBR322, экстрагированная и очищенная. Приготовленный препарат был изучен по конфирмациям молекул ДНК, занимаемых в различных состояниях посредством атомно-силовой микроскопии (АСМ MultiMode Scanning Probe Microscope). По полученным данным, характерная длина нормальной ДНК составила около 1447 нм. Для обнаружения единичных структурных повреждений по АСМ – снимкам были изучены размерности профилей поверхности, что позволяет оценить размеры молекул. Под размерными параметрами молекулы были приняты: длина и диаметр молекулы. Проведя анализ профилей, можно сделать выводы, что высоты профилей для участков поврежденной цепи ДНК составляют порядка 2,1 нм (Рис.1), в то время как для нормальной (неповрежденной) цепи характерны высоты порядка 1,2 нм (Рис. 2). После корректировки и обработки снимков образцов были получены данные по размерности молекул ДНК. Расчеты были проведены для облученных и необлученных образцов, и в общем случае для нормальных молекул ДНК персистентная длина составила 30 – 40 нм, в то время как для облученных молекул она составила

примерно 25 нм. Изменение персистентной длины в данном случае может быть интерпретировано как изменение жесткости молекулы после облучения за счет структурных повреждений в молекуле, приведших к многократному скручиванию, и как результат, потери упругости молекулы.

Определенные конформации молекул ДНК и ее объемные взаимодействия как полимерной макромолекулы обусловлены тем, что естественной конфигурацией полимерной цепи является не прямолинейная, а конфигурация запутанного в пространстве клубка[3]. Причиной тому принято считать гибкость цепи. Для выявления конформации ДНК на поверхности и последующего выявления повреждений было получено более 100 АСМ снимков с различными параметрами. Однако для выявления конкретного повреждения на снимке необходимо обрабатывать и интерпретировать каждый снимок в отдельности (Рис. 3). В этом заключается основная сложность примененного метода, т.к. для набора статистических данных по характерным повреждениям требуется особо четкое соблюдение повторяемости условий приготовления объектов для исследования.

### Литература

1. Сапарбаев М.К. Курс лекций «Повреждения клеточной ДНК и биологических последствий химической модификации нуклеиновых кислот»//Институт Густава Розы, Департамент CNRS UMR 8126, Лаборатория «Репарации ДНК», 2009.
2. Laura J. Niedernhofer The Structure-Specific Endonuclease Ercc1-Xpf Is Required To Resolve DNA Interstrand Cross-Link-Induced Double-Strand Breaks//MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY, July 2004, p. 5776–5787 Vol. 24, No. 13
3. Кудряшов Ю.Б. Радиационная биофизика (ионизирующие излучения)/М.: ФИЗМАТЛИТ, 2004.

### Иллюстрации

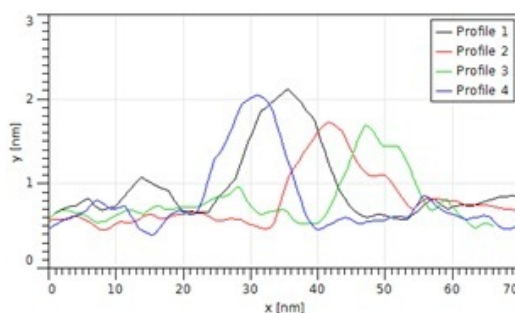


Рис. 1: Профили поверхности для различных участков цепи ДНК. Профили 1, 2, 3, 4 – для поврежденных участков

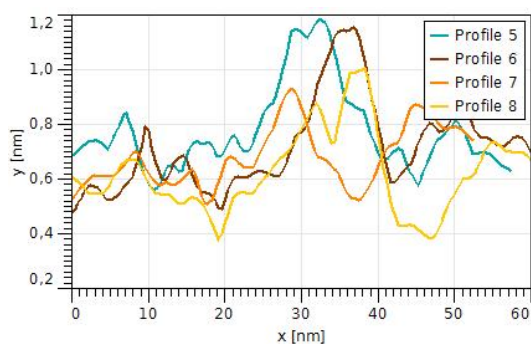


Рис. 2: Профили поверхности для различных участков цепи ДНК. Профили 5, 6, 7, 8 – для неповрежденных участков

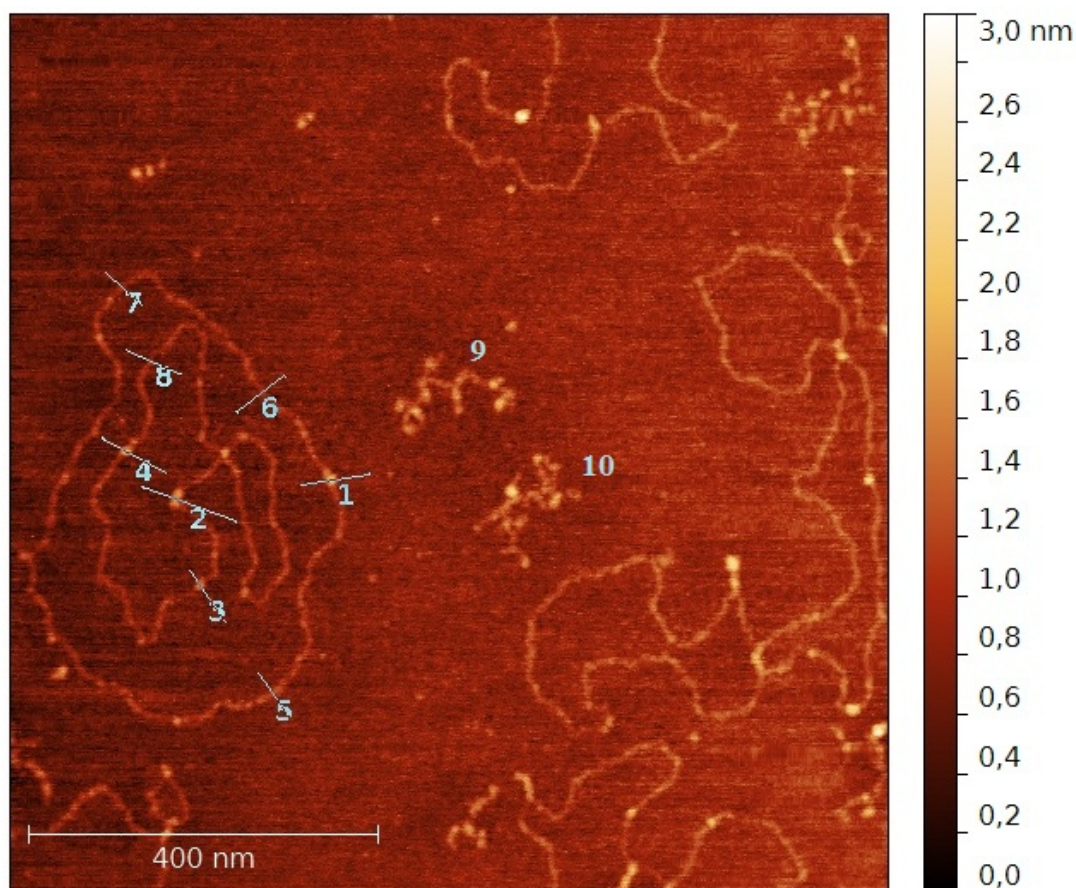


Рис. 3: Снимок молекул ДНК pBR 322. Цифрами: 1, 2, 3, 4 – обозначены маркеры профиля для поврежденных участков молекулы, 5, 6, 7, 8 – маркеры неповрежденных участков молекулы, 9 и 10 – полностью разрушенные (фрагментированные) молекулы.