

## Влияние катионов на амплификацию G-квадруплексных последовательностей ДНК

Научный руководитель – Калужный Дмитрий Николаевич

Чащина Г.В.<sup>1</sup>, Калужный Д.Н.<sup>1</sup>, Беняминов А.Д.<sup>2</sup>

1 - Московский физико-технический институт, Москва, Россия; 2 - Институт молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта РАН, Москва, Россия

G-квадруплексные последовательности ДНК способны формировать стабильные структуры в присутствии ионов калия и препятствовать амплификации таких участков методом ПЦР. Целью работы было разработать методику амплификации участков ДНК, содержащих G-квадруплексные последовательности. В качестве объекта исследования нами был выбран участок промотора онкогена c-MYC из элемента гиперчувствительности нуклеазы III1 (NHE III1), который контролирует до 80-90% транскрипционной активности этого гена. Богатая гуанином нить участка NHE III1 образует G-квадруплекс, обладающий высокой стабильностью [1].

Были подобраны праймеры для амплификации участка 191bp из chr8 (128748130-128748321). С использованием данных праймеров был проведен ПЦР на геномной ДНК человека. ПЦР-продукт соответствовал ожидаемому, но при этом был отмечен его низкий выход в стандартном буфере ПЦР, содержащим ионы калия.

Для выявления причин низкоэффективного ПЦР был использован метод удлинения флуоресцентно меченого праймера. Продукты данной реакции были проанализированы с помощью денатурирующего ПААГ. Оказалось, что синтез цепи ДНК обрывался на участках, соответствующих G-квадруплексным последовательностям. При замене иона калия на ион цезия обнаруживался полноразмерный ожидаемый продукт.

Таким образом, мы показали, что присутствие ионов цезия предотвращает с обрывы синтеза ДНК на матрице, содержащей потенциальные квадруплексные последовательности. Присутствие 20 mM калия при амплификации G-квадруплексных последовательностей ДНК снижает эффективность ПЦР.

Полученные результаты позволяют эффективно нарабатывать GC-богатые участки ДНК и будут использованы в дальнейшем для детекции стабильных катион-зависимых альтернативных структур ДНК.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ, проект № 16-14-10396.

### Источники и литература

- 1) González V., Hurley L.H. The c-MYC NHE III1: Function and Regulation // Annual Review of Pharmacology and Toxicology. 2010. V. 50. P. 111-129.