

**Обнаружение изгиба центромерной ДНК дрожжей методом spFRET
микроскопии**

Научный руководитель – Герасимова Надежда Сергеевна

Дралкина Мария Георгиевна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биоинженерии, Москва, Россия

E-mail: dramag98@gmail.com

Центромеры - сложно организованные участки хромосом эукариот, к которым через кинетохор присоединяются микротрубочки во время деления клетки. Почкующиеся дрожжи имеют относительно просто устроенные центромеры, однако их структура изучена не до конца. В частности, нет единого мнения насчёт организации центромерной нуклеосомы. На данный момент предполагают три возможных варианта: октамер, тетрамер или гемисома. Также не до конца известен механизм формирования центромерной нуклеосомы.

А-Т богатая область центромерной ДНК, предположительно, обладает изогнутой структурой. Ранее было показано, что центромерная ДНК во всех 16 хромосомах дрожжей обладает сниженной электрофоретической подвижностью, что косвенно свидетельствует об изгибании ДНК [1]. Наличие изгиба, предположительно, может способствовать сборке центромерной нуклеосомы на достаточно жесткой последовательности, включающей Ap и Tn тракты [2].

В данной работе была изучена структура участка ДНК, который при организации центромерной нуклеосомы оказывается в её центре - диаде.

Участок, выбранный для исследования, включает по 20 нуклеотидов по обе стороны от диады центромерной нуклеосомы и интересен тем, что с ним взаимодействует центромерный вариант гистона H3 - Cse4. В нашей работе мы подтверждаем наличие изгиба посредством детекции одиночных молекул с помощью Фёрстеровского резонансного переноса энергии (spFRET).

Метод spFRET микроскопии позволяет определить расстояние между двумя флуорофорами, находящимися на удалении $R \sim 3-10$ нм, благодаря переносу энергии от донора (Cy3) к акцептору (Cy5) при возбуждении донора. Эффективность переноса энергии при этом обратно пропорциональна R^6 . Таким образом, зная эффективность переноса энергии можно определить расстояние между двумя метками. В качестве контроля использовались прямые олигонуклеотиды, включающие повторы (ATGC)_n. Статистический анализ показал, что эффективность переноса энергии для прямых и центромерных олигонуклеотидов значимо различается.

Полученные результаты позволяют предположить, что в выбранном участке центромерной ДНК есть внутренний изгиб, вызванный последовательностью нуклеотидов.

Источники и литература

- 1) Bechert T. All 16 Centromere DNAs from *Saccharomyces Cerevisiae* Show DNA Curvature // *Nucleic Acids Research*. 1999. No. 6 (15). P. 1444–49.
- 2) Shaytan A.K., Hua X., Armeev G.A., Wu C., Landsman D., и Panchenko A.R.. Hydroxyl-Radical Footprinting Combined with Molecular Modeling Identifies Unique Features of DNA Conformation and Nucleosome Positioning // *Nucleic Acids Research*. 2017. No. 45 (16). P. 9229-9243.