

**РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н. И. ПИРОГОВА**

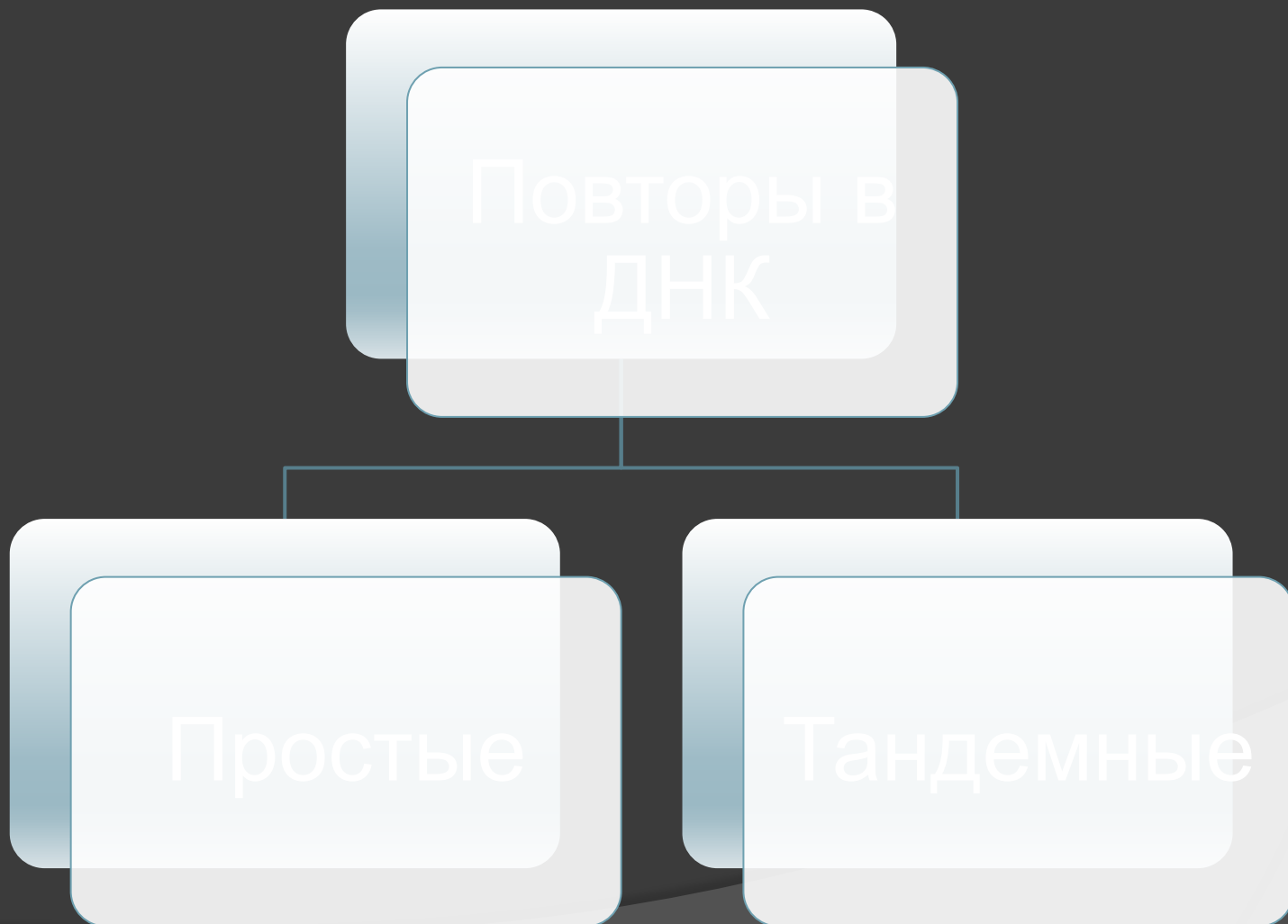
САТЕЛЛИТН АЯ ДНК

Выполнила студентка

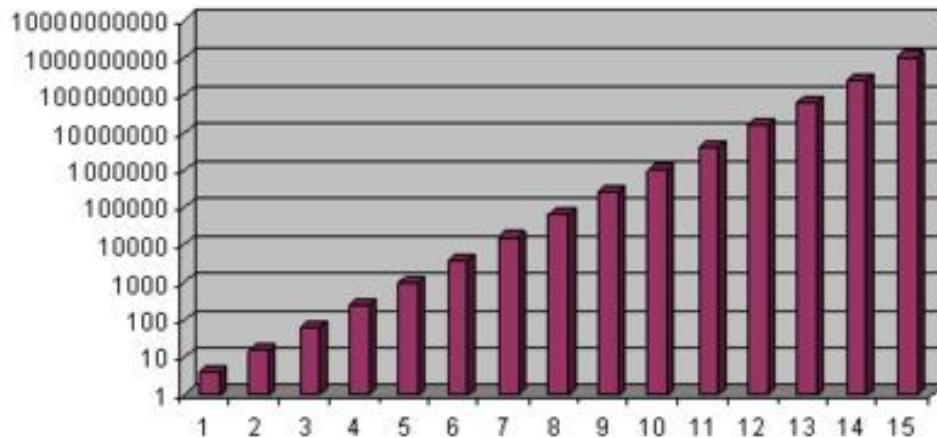
3.4.12 группы

Дариенко Кристина Александровна

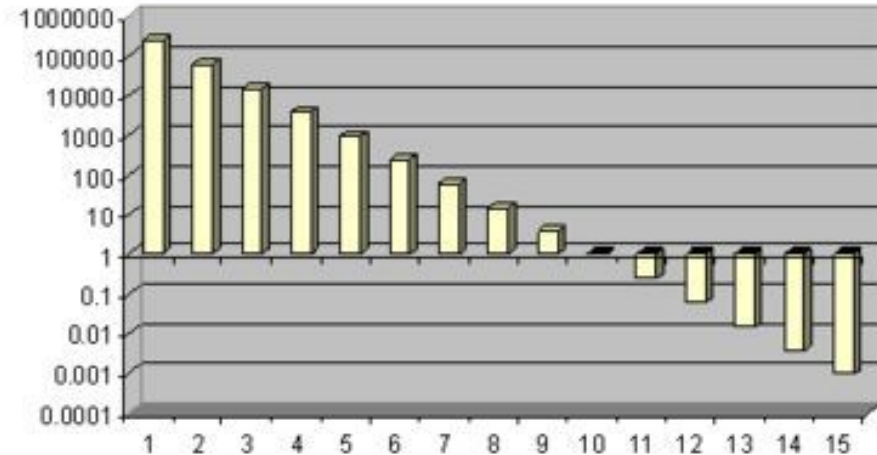
Повторы в ДНК



Повторяющиеся последовательности в геномах



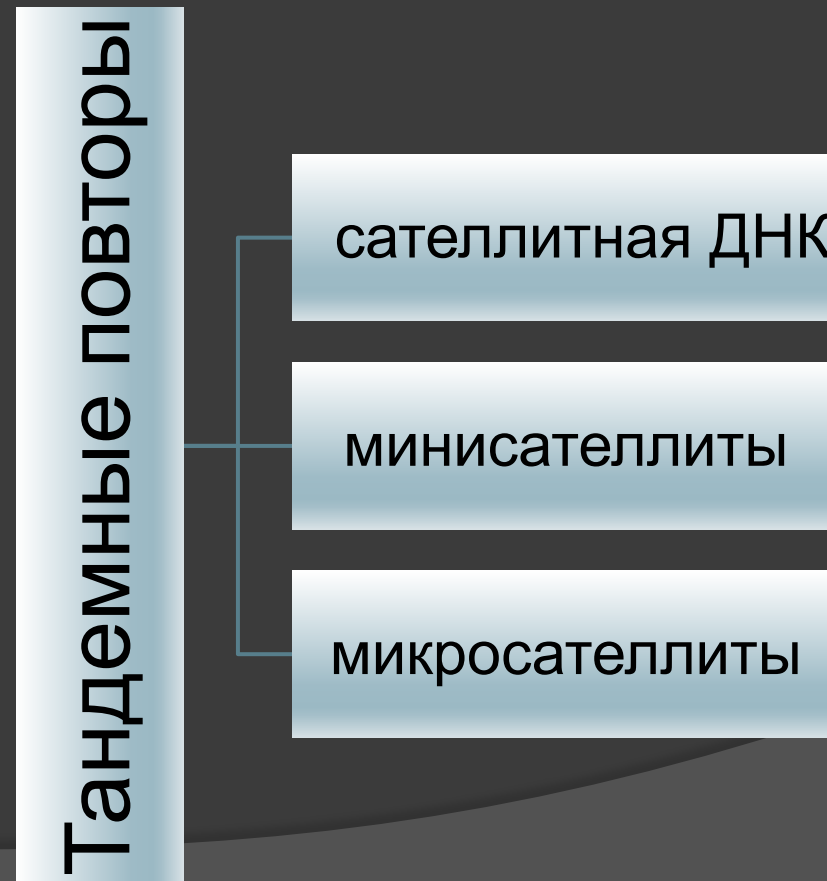
- Простые повторы
- моонуклеотидные
(AAAAA, GGGGGGGGG)
- динуклеотидные
(ATATATATAT, GCGCGCGCG)
- тринуклеотиды
(AGTAGTAGT, GACGACGAC)
- тетрануклеотидные
(AGTGAGTG, TTAGTTAGTTAG)



- Тандемные повторы
Сателлитная ДНК: микро- и макро-сателлиты
(TAGGGTTAGGGTTAGGGT...)
- «Мобильные» элементы (Interspersed repeats):
транспозоны и ретроэлементы.

Тандемные повторы

Тандемные повторы — последовательности повторяющихся фрагментов ДНК. В зависимости от размера подразделяются на три класса:



Сателлиты

- Более половины генома человека представлено в разной степени повторяющимися последовательностями или повторами. Они могут быть более или менее равномерно распределены по геному (дисперсные повторы) или быть приуроченными к отдельным районам хромосом (консолидированные повторы). К числу последних относят так называемые сателлиты.

Различия видов тандемных повторов

сателлитные ДНК	минисателлиты	микросателлиты
обнаруживаются в гетерохроматине	обнаруживаются в эухроматине	обнаруживаются в эухроматине
Число копий повторов от 2 п.н. до нескольких сотен	Число копий повторов 10–100 п.н.	Число копий повторов менее 10 п.н.

Сателлитная ДНК

- Сателлитная ДНК состоит из относительно коротких, высокоповторяющихся последовательностей.
- Сателлитная ДНК не кодирует белки

Функция

Неизвестна.

Возможно, что сателлитные ДНК:

- Оказывают влияние на кроссинговер во время мейоза
- Выполняют структурную функцию в хромосоме (так как локализуются в области центромеры).
- Участвуют в процессе расхождения хромосом (поскольку центромеры - это области, где при митозе и мейозе образуются кинетохоры, обеспечивающие движение хромосом).

Виды сателлитной ДНК

Виды	Длина повторяющейся последовательности нуклеотидов
Сателлит 1	(42 п. н.)
Сателлит 2	(5 п. н.)
Сателлит 3	(5 п. н.)
альфа-сателлитные	(171 п. н.)
бета-сателлитные	(68 п. н.)
гамма-сателлитные	(220 п. н.)

Локализация сателлитной ДНК

- Сателлитная ДНК не кодирует белки и локализована в конститутивном гетерохроматине хромосом (особенностью гетерохроматиновой ДНК является крайне низкая транскрибируемость).
- Сателлитная ДНК характерна для теломерных (концевые участки хромосом) и центромерных (принимает участие в соединении сестринских хроматид) областей хромосом.

Центрифугирование ДНК

- Тандемно повторяющиеся короткие последовательности часто образуют фракцию с определенными физическими свойствами. Эти свойства могут быть использованы для ее выделения.
- Фракция характеризуется плавучей плотностью.

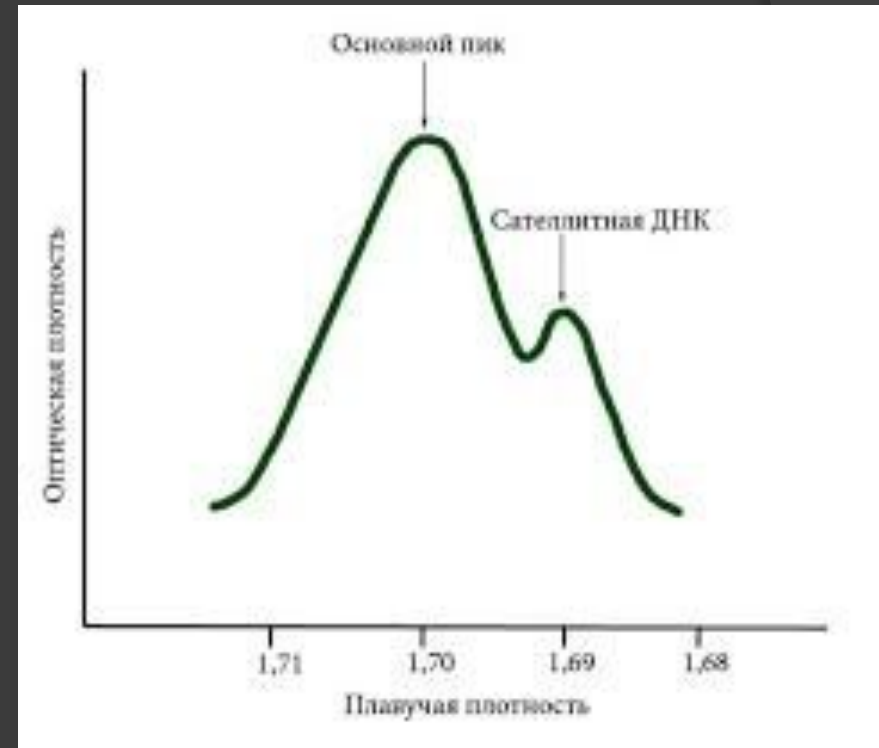
$$\rho = 1,660 + 0,00098 (\% \text{ G—C}) \text{ г} \cdot \text{см}^3$$

Центрифугирование ДНК

- Плавучую плотность обычно определяют при центрифугировании ДНК в градиенте плотности CsCl.
- В градиенте плотности CsCl можно разделять фракции ДНК, плавучая плотность которых различается более чем примерно на $0,005 \text{ г} \cdot \text{см}^3$. Эта разница соответствует различию в содержании (G—C)-пар

Центрифугирование ДНК

- Основной пик ДНК соответствует эукариотической ДНК
- Дополнительный пик (или пики) меньшего размера соответствуют сателлитной ДНК-сателлитам.



Фракции сателлитной ДНК

- Три основных пика сателлитной ДНК состоят из обладающих большим сходством последовательностей. Замена одного нуклеотидного основания достаточна для образования из фракции I сателлитной ДНК фракций II или III.
- Основное свойство этих сателлитных ДНК-очень маленькая длина повторяющейся единицы: только 7 п.н.



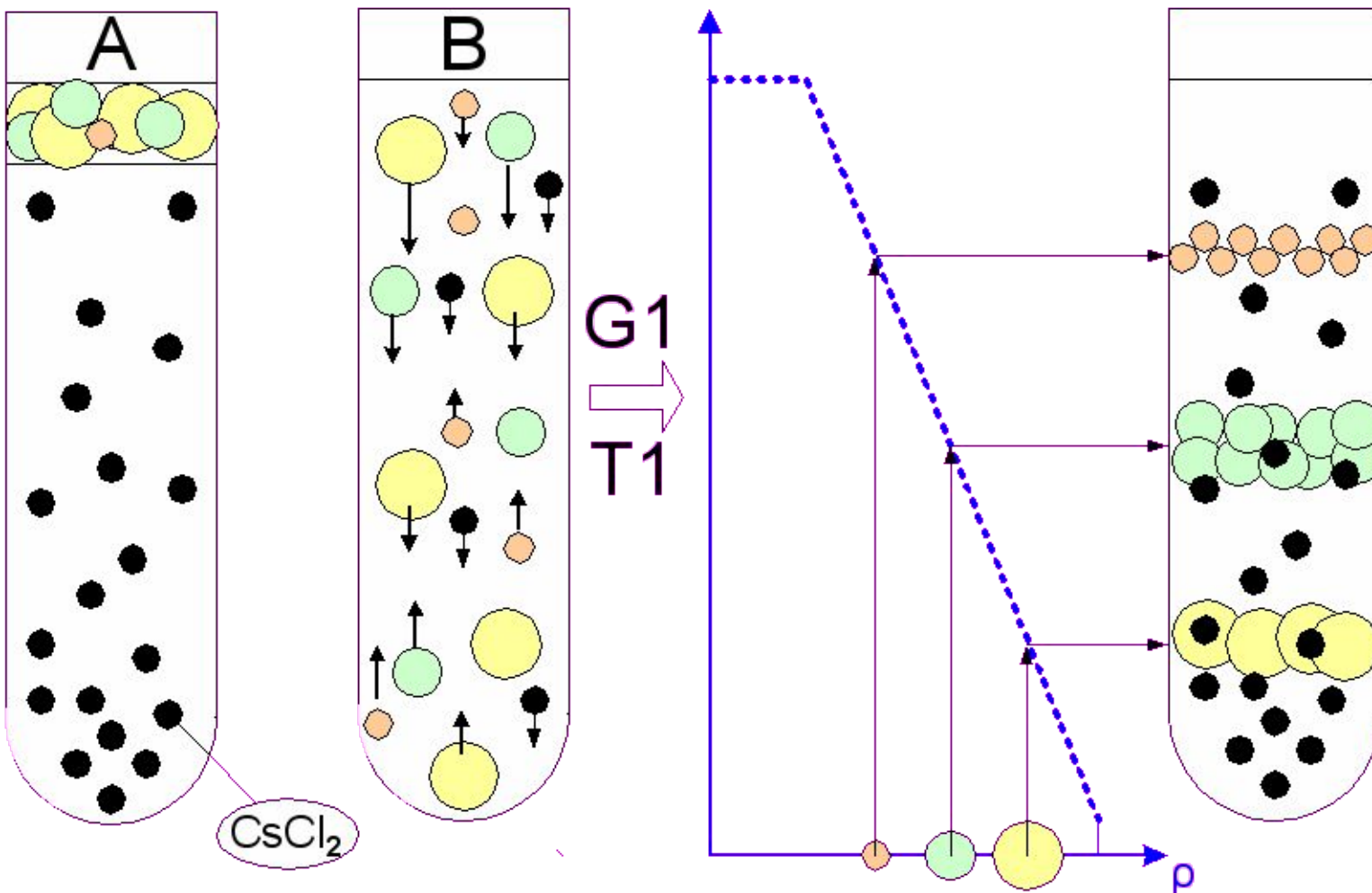
Сателлит I



Сателлит II



Сателлит III



A. В пробирке заранее создается градиент плотности ρ (CsCl_2), проба наслаивается
 B. Градиент плотности формируется в процессе центрифугирования, проба в растворе

Центрифугирование ДНК в градиенте плотности CsCl

МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ САТЕЛЛИТНЫХ ДНК

МЕТОД ЭНДОНУКЛЕАЗНОЙ РЕСТРИКЦИИ

МЕТОД «ОСТАТОЧНОЙ» ДНК

СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ПРАЙМЕРЫ

ГЕНОМНАЯ САМОАМПЛИФИКАЦИЯ («self/priming»)

МЕТОД ЭНДОНУКЛЕАЗНОЙ РЕСТРИКЦИИ

Тотальная ДНК расщепляется разными эндонуклеазами рестрикции (например HaeIII, TagI, Sau3a и др.), переносится по Саузерну и гибридизуется с тотальной ДНК. Мономерные полосы можно вырезать из геля, клонировать и использовать для следующей гибридизации по Саузерну. Обнаружение лестничноподобных рестрикционных фрагментов при гель-электрофорезе свидетельствует о наличии сателлитной ДНК.

МЕТОД «ОСТАТОЧНОЙ» ДНК

Тотальную ДНК расщепляют рестрикционными ферментами, которые не расщепляют сателлитные последовательности и разделяют на агарозном геле. Высокомолекулярную нерасщепленную остаточную ДНК вырезают из геля и для ее расщепления подбираются специфические эндонуклеазы рестрикции. Полученные фрагменты клонируют. Сателлит-содержащие клоны детектируют при помощи меченой «остаточной» ДНК.

СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ПРАЙМЕРЫ

Если сателлитные ДНК определенного вида уже охарактеризованы, строится праймер для ее повторяющейся единицы и с его помощью проводится амплификация сателлитной ДНК родственных видов.

ГЕНОМНАЯ САМОАМПЛИФИКАЦИЯ («self/priming»)

Многократно повторяющуюся ДНК можно амплифицировать и без праймеров, если тотальную ДНК фрагментировать ультразвуком или расщепить 4 п.н. расщепляющими рестрикционными ферментами. На первом этапе тотальная ДНК служит матрицей, а фрагментированная ДНК является праймером. Во втором раунде первый продукт ПЦР используется как «новая матрица».

нуклеотидные последовательности сателлитной ДНК организмов

- ⦿ Одно из свойств многих сателлитных ДНК-выраженная асимметрия в ориентации нуклеотидных пар двух цепей ДНК.

D. virilis

- В каждой из основных фракций сателлитной ДНК одна цепь существенно богаче основаниями Т и G. Это увеличивает ее плавучую плотность, поэтому после денатурации тяжелая цепь (H) может быть отделена от легкой цепи (L).
- У *Drosophila virilis* имеются три основных типа сателлитной ДНК, а также скрытый сателлит, которые вместе составляют значительную часть генома, около 40%.



Членистоногие

- Сателлитная ДНК членистоногих состоит из очень коротких идентичных повторов.
- Обычно одна очень короткая повторяющаяся единица составляет более 90% всех последовательностей сателлитной ДНК. Это облегчает определение ее нуклеотидной последовательности



Млекопитающие

- Сателлитная ДНК млекопитающих состоит из иерархически организованных повторов.
- Преобладающая короткая последовательность обычно составляет только небольшую часть копий. Другие короткие последовательности отличаются от нее множеством замен оснований, делеций и вставок.



Использованная литература:

- Льюин Б. «Гены» // М.: Мир. 1987. 544 С.
- Сингер М., Берг П. «Гены и геномы: В 2-х т.» Т. 1// М.: Мир. 1998. – 373 С.
- А. А. Сазанов «Генетика»
- В. ХЕМЛЕБЕН , Т. Г. БЕРИДЗЕ , Л. БАХМАН , Я. КОВАРИК , Р. ТОРРЕС «САТЕЛЛИТНЫЕ ДНК»