

## Получение искусственной нуклеазы на основе химерного белка Fpg-FokI

Научный руководитель – Мечетин Григорий Вениаминович

*Петров Глеб Олегович*

*Студент (магистр)*

Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,

Новосибирск, Россия

*E-mail: g.petrov@g.nsu.ru*

Эндонуклеазы рестрикции представляют собой ферменты, способные гидролизовать ДНК в строго определенных позициях нуклеиновой последовательности, называемых сайтами рестрикции. Высокая специфичность рестриктаз, а также подробное изучение механизмов узнавания, связывания и расщепления ДНК данными ферментами обусловили широкое применение ферментов рестрикции в геномной инженерии. Тем не менее, специфичности эндонуклеаз рестрикции недостаточно для внесения одиночных целевых разрывов в геномах высших организмов, вследствие чего ведется активная разработка искусственных нуклеаз, обладающих регулируемой специфичностью. Существующие на данный момент цинк-пальцевые нуклеазы (ZFN), TALE-нуклеазы и нуклеазы на основе систем CRISPR/Cas, несмотря на их высокую эффективность, обладают рядом недостатков. В связи с этим требуется разработка новых типов искусственных нуклеаз.

Целью данной работы является создание искусственной нуклеазы нового типа, путем соединения каталитического домена эндонуклеазы рестрикции FokI с формамидо-пиримидин-ДНК-N-гликозилазой (Fpg) *E. coli*. Нацеливание разрабатываемой нуклеазы на специфическую последовательность ДНК предполагает использование направляющего ДНК-зонда, содержащего модифицированное основание 8-оксогуанин и соединенного через прочную химическую связь с Fpg. В ходе работы был получен ген белка Fpg-FokI, подобраны оптимальные условия экспрессии исследуемой нуклеазы и получена ее растворимая форма. Проведен анализ эффективности боргидридной сшивки Fpg-FokI с ДНК-дуплексом, несущим основание 8-оксогуанин. Проанализирована нуклеазная активность Fpg-FokI на субстратах содержащих тетрагидрофуран и 8-оксогуанин в качестве центров сайтов связывания белка.