

Влияние ДНК-связывающего белка *EcSSB* на ферментативную активность ДНК-экзотрансферазы

Саченко Антось Борисович

Аспирант

Института подготовки научных кадров Национальной академии наук Беларуси,
Кафедра естественно-научных дисциплин, Минск, Беларусь

E-mail: lookatdownitisiam@gmail.com

Белки, связывающие одноцепочечную ДНК (Single Strand Binding, SSB), предотвращают образование ДНК-дуплекса и обеспечивают репликацию ДНК [1]. *EcSSB* белок *E. coli* используется при проведении ПЦР, поскольку предотвращает образование вторичных структур между праймерами и образование неспецифичных продуктов [2]. ДНК-экзотрансфераза быка (*TdT*) - уникальный фермент, который добавляет нуклеотиды к 3'-концу одноцепочечной ДНК и является перспективным ферментом для безматричного ферментативного *de novo* синтеза ДНК. Эффекты *EcSSB* на активность *TdT* ранее не исследовались, а по аналогии с ПЦР можно ожидать как изменение активности, так и селективности фермента.

Влияние белка *EcSSB* на ферментативную реакцию *TdT*, исследовалось методами ВЭ-ЖХ и ПААГ-электрофореза (Рис).

По результатам анализа активности фермента установлено, что добавление белка *EcSSB* в реакционную смесь существенно увеличивает активность фермента *TdT* для 25- и 50-мерных олигонуклеотидных субстратов, как в присутствии ионов активатора Co^{2+} , так и без них. Более того, присутствие *EcSSB* влияет на распределение продуктов реакции путем увеличения в сторону продуктов большей длины. Однако, *EcSSB* не влияет на превращение коротких олигонуклеотидов (5-мерных) ферментом.

Благодарность. Работа выполнена при поддержке гранта БРФФИ № X21M-056 и Национальной академии наук Беларуси, соглашение о гранте № 2022-27-009.

Источники и литература

- 1) Bochkarev A. et al. The crystal structure of the complex of replication protein A subunits RPA32 and RPA14 reveals a mechanism for single-stranded DNA binding // EMBO J. 1999. Vol. 18, № 16. P. 4498–4504.
- 2) Chédin F., Seitz E. M., Kowalczykowski S. C. Novel homologs of replication protein A in archaea: implications for the evolution of ssDNA-binding proteins // Trends in biochem. scienc. 1998. Vol. 23, № 8. P. 273–277.

Иллюстрации

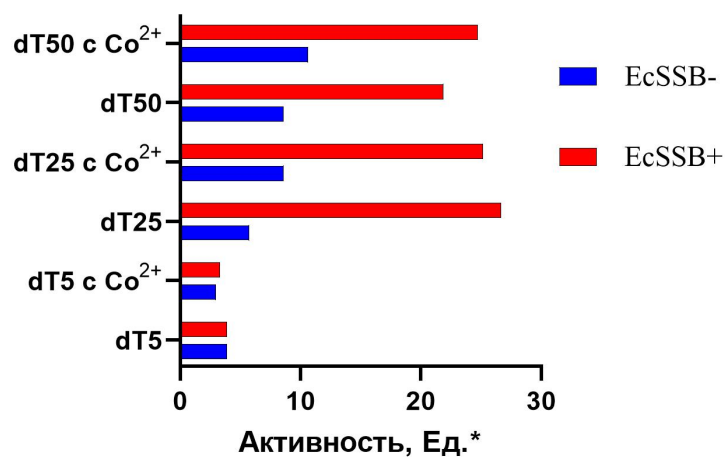


Рис. : Влияние EcSSB ДНК-экзотрансферазы. *Одна единица активности представляет собой количество фермента, необходимое для включения 1 нмоль остатков дезокситимидилата в полинуклеотид за 60 минут при 37°C.