**Зверева, Мария Эмильевна.**

## Изучение малых стабильных молекул РНК - компонентов аппарата трансляции : диссертация ... кандидата химических наук : 02.00.10. - Москва, 2000. - 116 с. : ил.

## Оглавление диссертациикандидат химических наук Зверева, Мария Эмильевна

СОДЕРЖАНИЕ.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.

ВВЕДЕНИЕ.

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. тмРНК (lOSa РНК) и ее структура.

1. Ген тмРНК.

2. Структура тмРНК.

3. тРНК-подобная структура.

4. мРНК-подобная часть.

5. Особенности структуры матричной части тмРНК.

6. Внутренняя область.

7. Функционирование тмРНК.

ГЛАВА П. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.

1. Определение белкового партнера тмРНК и изучение тмРНК-белкового комплекса.

1.1. Получение тмРНК, содержащей 4-тиоуридин.

1.2. Фотоактивируемое сшивание в S100 экстракте.

1.3. Идентификация белка, сшивающегося с модифицированной тмРНК в S100 экстракте.

1.4. Изучение комплекса тмРНК с изолированным EF-Tu.

1.5. Исследование взаимодействия тмРНК с EF-Tu в комплексе тмРНК-EF-Tu-GDP.

2. Изучение роли U89 5S рРНК Ecoli в функционировании рибосомы.

2.1. Получение мутантных 5S рРНК.

2.2. Реконструкция 50S рибосомных субчастиц с мутантной 5S рРНК.

3. Установление функциональной гомологии между 5S рРНК-связывающими белками T.thermophilus иE.coli.

ГЛАВА Ш. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

1. Реактивы.

2. Биопрепараты.

3. Синтез тмРНК с помощью Т7-РНК-полимеразы.

4. Синтез тмРНК, содержащей 4-тиоуридин.

5. Ti-фингерпринты.

6. Комплексообразование и фотоактивируемое химическое сшивание.

7. Анализ сшившегося белка.

8. Измерение константы ассоциации комплекса тмРНК и EF-Tu.

9. Образование комплекса тмРНК и EF-Tu-GDP.

10. Футпринтинг.

11. Определение позиции сшивки.

12. Секвенирование и анализ сшивки тмРНК и EF-Tu-GDP с помощью реакции обратной транскрипции.

13. Синтез ДНК матрицы для Т7 транскрипции 5S рРНК с помощью полимеразной цепной реакции.

14. Синтез 5S рРНК с помощью Т7-РНК-полимеразы.

15. Дефосфорилирование 5S рРНК.

16. 5'-концевое мечение 5S рРНК.

17. Выделение 23 S и 5S рРНК из 70S рибосом.

18. Разделение 23S и 5S рРНК в градиенте градиенте концентрации сахарозы.

19. Выделение суммарного белка (ТР 50) из 50S субчастиц рибосомы.

20. Реконструкция 50S субчастиц рибосомы.

21. Выделение реконструированных 50S рибосомных субчастиц.

22. Выделение 70S рибосом.

23. Зональное центрифугирование для выделения 70S, 30S и 50S.

ВЫВОДЫ