**Колпащиков, Дмитрий Михайлович.**

## Синтез новых аффинных фотореагентов на основе аналогов ТТР для исследования белково-нуклеиновых взаимодействий : диссертация ... кандидата химических наук : 02.00.10. - Новосибирск, 1999. - 121 с. : ил.

## Оглавление диссертациикандидат химических наук Колпащиков, Дмитрий Михайлович

СОДЕРЖАНИЕ

СОДЕРЖАНИЕ

ПРИНЯТЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

ВВЕДЕНИЕ

ГЛАВА 1. ФОТОАФФИННАЯ МОДИФИКАЦИЯ КАК ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИЙ БИОПОЛИМЕРОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. ФОТОАФФИННАЯ МОДИФИКАЦИЯ. ЕЕ МЕСТО В РЯДУ ДРУГИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОПОЛИМЕРОВ. ЦЕЛИ НАСТОЯЩЕГО ОБЗОРА

1.2. ОСНОВНЫЕ ТИПЫ ФОТОАФФИННЫХ РЕАГЕНТОВ. НЕКОТОРЫЕ ПРИМЕРЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

1.2.1. "Прямые фотосшивки"

1.2.2. Реагенты, содержащие 4-тиоурацш

1.2.3. Нуклеиновые кислоты, содержащие 5-бромурацш

1.2.4. Фотореагенты на основе З-трифторметил-З-аршдиазиринов

1.2.5. Реагенты на основе арилазидов

1.3. ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ МЕТОДА

1.3.1. Флеш фотолиз как метод регистрации перестройки конформаций биополимеров

1.3.2. Введение фотореакционноспособных групп в белки

1.3.3. Методы высокоселективного аффинного мечения

ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1. МАТЕРИАЛЫ

2.2. МЕТОДЫ

2.3. СИНТЕЗ АРИЛАЗИДОВ НА ОСНОВЕ 3-ХЛОР-4-АЗИДО-2,5-ДИФТОРПИРИДИНА

2.4. СИНТЕЗ АНАЛОГОВ ТТР, ЗАМЕЩЕННЫХ ПО 5-ОМУ ПОЛОЖЕНИЮ УРИДИНА

2.5. ФОТОЛИЗ ФОТОРЕАГЕНТОВ

2.6 ИССЛЕДОВАНИЕ СУБСТРАТНЫХ СВОЙСТВ АНАЛОГОВ ТТР

2.6.1. Синтез ДНК, катализируемый ДНК-полимеразой из Ткегтш ЖгторЬИт

2.6.2. Проверка субстратных свойств ЫАВ-п-сШТР для ДНК-полимеразы [5 крысы

2.6.3. Измерение констант Михаэлиса для аналогов ТТР

2.7. ФОТОАФФИННАЯ МОДИФИКАЦИЯ ДНК-ПОЛИМЕРАЗ

2.7.1. Фотоаффинная модификация ДНК- полимеразы из ТЪегтш 17пеггпоркИи8

2.7.2. Фотоаффинная модификация ДНК-полимеразы ¡3 крысы

2.8. ФОТОАФФИННАЯ МОДИФИКАЦИЯ РЕПЛИКАТИВНОГО БЕЛКА А ЧЕЛОВЕКА

2.9. СЕНСИБИЛИЗИРОВАННАЯ ФОТОМОДИФИКАЦИЯ ДНК-ПОЛИМЕРАЗ

ГЛАВА 3. СИНТЕЗ АФФИННЫХ ФОТОРЕАГЕНТОВ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ МОДИФИКАЦИИ ДНК-ПОЛИМЕР A3 И РЕПЛИКАТИВНОГО БЕЛКА А ЧЕЛОВЕКА (РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ)

3.1. СИНТЕЗ АНАЛОГОВ ТТР С ВАРИАБИЛЬНОЙ ДЛИНОЙ ЛИНКЕРА МЕЖДУ ОСНОВАНИЕМ И ФОТОАКТИВНОЙ ГРУППОЙ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СТРУКТУРЫ БЕЛОК-НУКЛЕИНОВЫХ КОМПЛЕКСОВ

3.1.1. Синтез аналогов ТТР, содержащих 2-нитро-5-азидобензоипъный остаток, соединенный с 5-ым положением урацила линкерами различной длины (NAB-n-dUTP)

3.1.2. Исследование субстратных свойств NAB-n-dUTP для эукариотической ДНК-полимеразы ¡3

3.1.3. Фотоаффинная модификация ДНК-полимеразы fiuRPA

3.1.4. Использование аналогов ТТР для идентификации двух конформаций RPA

3.2. ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ МОДИФИКАЦИИ ПУТЕМ ВАРЬИРОВАНИЯ ПРИРОДЫ АРИЛАЗИДОГРУППЫ

3.2.1. Получение арилазидов на основе 3-хлор-2,4,5,6-тетрафторпиридина

3.2.2. Получение аналогов ТТР, содержащих в качестве реакционноспособных групп З-хлор-4-азидо-2,5-дифторпиридин-б-ил (FAP-7-dUTP, FAP-8-dUTP) и 4-азидо-2,3,5,б-тетрафтор-бензоил (FAB-4-dUTP). Исследование их фотохимических и субстратных свойств

3.2.3. Фотоаффинная модификация ДНК-полимеразы из Thermus thermophilics с использованием FAP-7-dUTP и FAP-8-dUTP

3.3. ПРИМЕНЕНИЕ БИНАРНОЙ СИСТЕМЫ ФОТОАФФИННЫХ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫСОКОСЕЛЕКТИВНОЙ МОДИФИКАЦИИ ДНК-ПОЛИМЕРАЗ

3.3.1. Принципиальная схема фотосенсибилизированной модификации ДНК-полимераз

3.3.2. Синтез аналога ТТР, содержащего остаток пирена и его субстратные свойства для ДНК-полимеразы ¡3 крысы

3.3.3. Фотосенсибилизированная модификация ДНК-полимераз

ВЫВОДЫ