**Воробьева, Ольга Валерьевна.**

## С5-цитозиновая ДНК-метилтрансфераза Ssoll как бифункциональный белок: изучение взаимодействия с участком метилирования и с промоторной областью генов системы рестрикции-модификации Ssoll : диссертация ... кандидата химических наук : 02.00.10. - Москва, 2004. - 157 с. : ил.

## Оглавление диссертациикандидат химических наук Воробьева, Ольга Валерьевна

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.

ВВЕДЕНИЕ.

ГЛАВА 1. Молекулярные аспекты взаимодействия белков семейства С5-цитозиновых ДНК-мстилтрансфераз и семейства Сго-белков и рспрессоров с ДНК

Литературный обзор).

1.1. Классификация ДНК-связывающих белков.

1.2. Строение и свойства С5-цитозиновых ДНК-метилтрансфераз.

1.2.1. Функции ДНК-метилтрансфераз.

1.2.1.1. Биологическое значение метилирования ДНК в прокариотах.

1.2.1.2. Биологическое значение метилирования ДНК в эукариотах.

1.2.2. Первичная структура С5-цитозиновых ДНК-мстилтрансфераз.

1.2.3. Пространственная структура С5-цитозиновых ДНК-мстилтрансфераз.

1.2.4. Механизм катализа переноса метальной группы С5-цитозиновыми ДНК-метилтраисфсразами.

1.2.5. Молекулярные механизмы взаимодействия С5-цитозиновых

ДНК-метилтрансфераз с ДНК-субстратом и кофактором.

1.2.5.1. Особенности связывания ДНК С5-цитозиновыми ДНК-метилтрансферазами.

1.2.5.2. Структурные аспекты ДНК-белкового узнавания в комплексах

С5-цитозиновых ДНК-метилтрансфераз.

1.3. Строение и свойства Сго-белков и рспрессоров.

1.3.1. Структурный мотив «спираль-иоворот-спираль».

1.3.2. Представители, входящие в семейство Сго-белков и реирессоров.

1.3.3. Биологические функции фаговых репрессоров и Сго-белков. Регуляция генов в жизненном цикле бактериофага X.

1.3.4. Структура Сго-белков и репрессоров.

1.3.5. Механизм связывания Сго-белков и репрессоров с ДНК.

1.3.6. Белок-белковые взаимодействия в структурах Сго-белков и репрессоров.

ГЛАВА 2. С5-цитозиновая ДНК-метилтрансфераза БэоН как бифункциональный белок: изучение взаимодействия с участком метилирования и с промоторной областью генов системы рестрикции-модификации БэоП

Обсуждение результатов).

2.1. Разработка методики определения неметилируемого остатка 2'-дезоксицитидина в участке метилирования цитозиновых ДНК-метилтрансфераз.

2.1.1. Установление специфичности действия Д11К-метилтрансферазы Ы1аХ.

• 2.2. Фермент модификации БэоИ как С5-цитозиновая ДНК-метилтраисфсраза.

2.2.1. Равновесное связывание метилтрансферазы БэоН с участком метилирования.

2.2.2. Идентификация групп атомов участка метилирования, взаимодействующих с метилтрансферазой БэоП при формировании специфического комплекса.

2.2.2.1. Взаимодействие метилтрансферазы БэоН с ^модифицированными ДНК-субстратами.

2.2.2.2. Взаимодействие метилтрансферазы БэоН с ДНК-субстратами, содержащими 5-метил-2'-дезоксицитидин в одной из цепей участка метилирования.

2.2.3. Роль Суз142 каталитического центра метилтрансферазы БэоН в связывании ДНК.

2.3. Изучение роли метилтрансферазы БэоН в процессе дезаминирования метилируемого цитозина.

2.4. Регуляция в системе рестрикции-модификации БбоН. Фермент модификации БэоН как регуляторный белок

2.4.1. Исследование равновесного связывания метилтрансферазы SsoII с регуляторыым» участком ДНК.

2.4.2. Идентификация групп атомов «регуляторного» участка ДНК, взаимодействующих с метилтрансферазой SsoII при формировании специфического комплекса.

2.4.3. Ковалснтпос присоединение метилтрансферазы SsoII к ДНКлигандам, содержащим 2'-альдегидпую группу.

2.5. Анализ ДНК-белковых контактов в комплексах метилтрансферазы SsoII с «регуляторным» участком и участком метилирования.

2.6. Моделирование ДНК-белковых взаимодействий в комплексах метилтрансферазы

SsoII с «регуляторным» участком и участком метилирования.

ГЛАВА 3. Экспериментальная часть.

3.1. Реактивы и материалы.

3.2. Приборы и методы.

3.3. Общие методики.

3.3.1. Введение 32Р-метки в ДНК.

3.3.2. Определение пуклеотидных последовательностей фрагментов ДНК.

3.3.3. Исследование равновесного связывания ДНК-метилтрансфсразы SsoII с ДНК-лигандами.

3.3.4. Метод «отпечатков» с использованием N-этил-М-нитрозомочевины в качестве модифицирующего реагента.

3.3.5. Метод «отпечатков» с использованием диметилсульфата в качестве модифицирующего реагента.

3.3.6. Метод «отпечатков» с использованием муравьиной кислоты в качестве модифицирующего реагента.

3.3.7. Метод «отпечатков» с использованием гидразина в качестве модифицирующего реагента.

3.3.8. Ковалентнос присоединение ДНК-метилтрансфераз 1Ч1аХ и БбоН к ДНК-дуплексам, содержащим 5-фтор-2'-дезоксицитидин.

3.3.9. Ковалентное присоединение ферментов нуклеинового обмена к ДНК-дуплексам, содержащим фосфорилдисульфидную межнуклеотидпую группу.

3.3.10. Ковалентнос присоединение ДНК-метилтрансфсразы БбоН к ДНК-дуплексам, содержащим 2'-альдегидную группу.

3.3.11. Определение эффективности взаимодействия метилтрапсфераз 1Ч1аХ и БбоП с ДНК-субстратами.

3.3.12. Определение пеметилирусмого остатка 2'-дезоксицитидина в участке узнавания цитозииовых ДНК-метилтрансфераз.

3.3.13. Молекулярное моделирование.

ВЫВОДЫ.