STRUKTURNÍ ANALÝZA PŘIROZENĚ SE VYSKYTUJÍCÍCH SEKVENCÍ INTERAGUJÍCÍCH S NÁDOROVÝM SUPRESOREM P53

[1]**Podešvová Lucie**
[1]*Katedra biologie a ekologie, Přírodovědecká fakulta, Ostravská univerzita v Ostravě, Chittussiho 10, 710 00 Ostrava, R10084@student.osu.cz*

Abstrakt

Protein p53 je významný transkripční faktor, jenž svou vazbou na řadu promotorů cílových genů indukuje jejich expresi. Výsledné produkty této exprese jsou poté zodpovědné za regulaci buněčného cyklu, opravu poškozené DNA, senescenci buňky a případně apoptózu. Pokud dojde v proteinu p53 k mutaci, nejenže leckdy ztrácí svou funkci, ale často nabývá i onkogenních vlastností. Zejména proto je proteinu p53 věnována pozornost již několik desítek let.

Nádorový supresor p53 je aktivován v závislosti na typu poškození DNA. Aktivovaný p53 interaguje s DNA dvěma způsoby. První způsob interakce spočívá ve vyhledání příslušné sekvence v DNA, k níž se p53 váže sekvenčně specificky. V druhém případě se p53 váže na různé strukturní motivy DNA a pro svou vazbu přítomnost vazebné sekvence nevyžaduje [1]. Druhý způsob vazebné aktivity je označován za sekvenčně nespecifickou vazbu a struktury, které p53 rozeznává a interaguje s nimi, se obecně označují za lokální otevřené struktury. Lokální otevřené struktury vznikají vlivem negativního superhelikálního vinutí DNA a patří mezi ně triplexy, kvadruplexy a křížové formy [2]. Všechny ze zmíněných struktur jsou charakteristické přítomností jednořetězcových úseků. Pro analýzu sekvencí DNA, jež mohou být zodpovědné za vznik otevřených struktur, se často používají enzymy rozeznávající a štěpící jednořetězcové úseky DNA. Jedním z těchto enzymů je nukleáza S1, která pro svou aktivitu vyžaduje přítomnost zinečnatých iontů. Pro určení místa štěpení nukleázy S1, a tedy výskytu lokálních otevřených struktur, se používají restrikční endonukleázy, jejichž místa štěpení jsou známá.

Cílem práce bylo analyzovat plazmidovou DNA s vloženou sekvencí, k níž se p53 váže sekvenčně nespecificky. Předpokládá se, že ve vložené sekvenci můžou při určitých podmínkách vznikat lokální otevřené struktury. K analýze této sekvence byla použita nukleáza S1 a restrikční endonukleázy.

Klíčová slova: *protein p53; lokální otevřené struktury; nukleáza S1; restrikční endonukleázy*

Poděkování

Chtěla bych poděkovat vedoucímu mé bakalářské práce doc. RNDr. Petru Pečinkovi, CSc. za odborné rady, připomínky a čas, který mi věnoval. Dále bych chtěla poděkovat Mgr. Jiřímu Červeňovi za cenné rady, ochotu a pomoc s prací v laboratoři. Oběma patří mé díky i za motivaci a kladný přístup po celou dobu, během které byla práce realizována.

Literatura

[1] BAYLE J. H., ELENBAAS B., LEVINE A. J. *The carboxyl-terminal domain of the p53 protein regulates sequence-specific DNA binding through its nonspecific nucleic acid-binding aktivity*. PNAS, 1995, roč. 92, s. 5729-5733.

[2] BRÁZDA V., LAISTER R. C., JAGELSKÁ B. E., ARROWSMITH CH. *Cruciform structures are a common DNA feature important for regulating biological processes*. BMC Molecular biology, 2011, roč. 12, č. 33, s. 1-16.