

Rövidítések jegyzéke

AID	Activation-Induced Deaminase; Aktiválás-indukált dezamináz
AP hely	Apurinic/apyrmidinic site; pirimidin/purin-mentes hely
APE	AP endonukleáz (Endonukleáz IV)
BER	Base excision repair; Báziskivágáson alapuló javítás
C	Citozin
DNS	Dezoxiribonukleinsav
dNTP	Dezoxinukleozid-trifoszfát
dTMP	Dezoxitimidin-monofoszfát
dTTP	Dezoxitimidin-trifoszfát
dUMP	Dezoxiuridin-monofoszfát
dUTP	Dezoxiuridin-trifoszfát
dUTPáz	Dezoxiuridin-trifoszfát-pirofoszfatáz
EDTA	Etiléndiamintetraecetsav
EGFP	Enhanced green fluorescent protein
EMSA	Electrophoretic Mobility Shift Assay; Elektroforetikus mobilitás teszt
G	Guanin
HF	High fidelity
HRP	Horse Radish Peroxidase; Torma peroxidáz
IPTG	Izopropil- β -D-tiogalaktozid
LB	Luria-Bertani (tápoldat)

MBD4	methyl-CpG-binding domain protein 4
MMR	Mismatch repair; hibáspár-javítás
MS	Mass Spectrometry; Tömegspektrometria
NEB	New England Biolabs
NER	Nucleotide excision repair; nukleotid-kivágó mechanizmus
PCNA	Proliferating cell nuclear antigen
PCR	Polimerase chain reaction; polimeráz láncreakció
qPCR	Kvantitatív real time PCR
RNS	Ribonukleinsav
RPA2	Replication protein A2
SDS	Sodium dodecil sulfate; Nátrium-dodecil-szulfát
SMUG1	Single-strand selective monofunctional uracil DNA glycosylase
T	Timin
TAE	Tris-acetát-EDTA puffer
TDG	T/U mismatch DNA glycosylase; T/U hibáspár DNS glikoziláz
TRIS	Trisz(hidroximetil)metánamin
U	Uracil
UDG	Uracil-DNS glikoziláz
UGI	Uracil-glikoziláz inhibitor
UNG	Uracil-DNS N-glikoziláz
UV	Ultraibolya

Irodalomjegyzék

- [1] P. Maróy and T. Török, *Genetika BS*. 2009.
- [2] T. Lindahl, "Instability and decay of the primary structure of DNA.," *Nature*, vol. 362, no. 6422, pp. 709–15, Apr. 1993.
- [3] O. Fleck and O. Nielsen, "DNA repair.," *J. Cell Sci.*, vol. 117, no. Pt 4, pp. 515–7, Feb. 2004.
- [4] E. C. Friedberg, "DNA damage and repair.," *Nature*, vol. 421, no. 6921, pp. 436–40, Jan. 2003.
- [5] A. Békési and B. G. Vértessy, "Uracil a DNS-ben : hiba vagy jel ? Uracil in DNA : error or signal ?,” *Biokemia*, vol. 32, pp. 2–9, 2008.
- [6] A. Beke, "Uracil a DNS-ben : hiba vagy jel ? A dUTPáz szabályozása és egy újonnan azonosított U-DNS nukleáz a *Drosophila melanogaster* fejlődésében.,” *ELTE*, 2007.
- [7] H. E. Krokan, F. Drabløs, and G. Slupphaug, "Uracil in DNA--occurrence, consequences and repair.,” *Oncogene*, vol. 21, no. 58, pp. 8935–48, Dec. 2002.
- [8] B. G. Vértessy and J. Tóth, "Keeping uracil out of DNA: physiological role, structure and catalytic mechanism of dUTPases.,” *Acc. Chem. Res.*, vol. 42, no. 1, pp. 97–106, Jan. 2009.
- [9] I. TAKAHASHI and J. MARMUR, "Replacement of Thymidylic Acid by Deoxyuridylic Acid in the Deoxyribonucleic Acid of a Transducing Phage for *Bacillus subtilis*.,” *Nature*, vol. 197, no. 4869, pp. 794–795, Feb. 1963.
- [10] S. Kiljunen, K. Hakala, E. Pinta, S. Huttunen, P. Pluta, A. Gador, H. Lönnberg, and M. Skurnik, "Yersiniophage phiR1-37 is a tailed bacteriophage having a 270 kb DNA genome with thymidine replaced by deoxyuridine.,” *Microbiology*, vol. 151, no. Pt 12, pp. 4093–102, Dec. 2005.
- [11] N. Yan, E. O’Day, L. A. Wheeler, A. Engelman, and J. Lieberman, "HIV DNA is heavily uracilated, which protects it from autointegration.,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 108, no. 22, pp. 9244–9, May 2011.
- [12] B. Kavli, M. Otterlei, G. Slupphaug, and H. E. Krokan, "Uracil in DNA--general mutagen, but normal intermediate in acquired immunity.,” *DNA Repair (Amst.)*, vol. 6, no. 4, pp. 505–16, Apr. 2007.

- [13] T. Visnes, B. Døseth, H. S. Pettersen, L. Hagen, M. M. L. Sousa, M. Akbari, M. Otterlei, B. Kavli, G. Slupphaug, and H. E. Krokan, "Uracil in DNA and its processing by different DNA glycosylases.," *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, vol. 364, no. 1517, pp. 563–8, Mar. 2009.
- [14] H. Nilsen, M. Otterlei, T. Haug, K. Solum, T. A. Nagelhus, F. Skorpen, and H. E. Krokan, "Nuclear and mitochondrial uracil-DNA glycosylases are generated by alternative splicing and transcription from different positions in the UNG gene.," *Nucleic Acids Res.*, vol. 25, no. 4, pp. 750–5, Feb. 1997.
- [15] B. Kavli, O. Sundheim, M. Akbari, M. Otterlei, H. Nilsen, F. Skorpen, P. A. Aas, L. Hagen, H. E. Krokan, and G. Slupphaug, "hUNG2 is the major repair enzyme for removal of uracil from U:A matches, U:G mismatches, and U in single-stranded DNA, with hSMUG1 as a broad specificity backup.," *J. Biol. Chem.*, vol. 277, no. 42, pp. 39926–36, Oct. 2002.
- [16] B. Hendrich, U. Hardeland, H. H. Ng, J. Jiricny, and A. Bird, "The thymine glycosylase MBD4 can bind to the product of deamination at methylated CpG sites.," *Nature*, vol. 401, no. 6750, pp. 301–4, Sep. 1999.
- [17] D. O. Zharkov, G. V. Mechetin, and G. A. Nevinsky, "Uracil-DNA glycosylase: Structural, thermodynamic and kinetic aspects of lesion search and recognition.," *Mutat. Res.*, vol. 685, no. 1–2, pp. 11–20, Mar. 2010.
- [18] D. Cortázar, C. Kunz, Y. Saito, R. Steinacher, and P. Schär, "The enigmatic thymine DNA glycosylase.," *DNA Repair (Amst.)*, vol. 6, no. 4, pp. 489–504, Apr. 2007.
- [19] A. Horváth and B. G. Vértessy, "A one-step method for quantitative determination of uracil in DNA by real-time PCR.," *Nucleic Acids Res.*, vol. 38, no. 21, p. e196, Nov. 2010.
- [20] A. Galashevskaya, A. Sarno, C. B. Vågbø, P. A. Aas, L. Hagen, G. Slupphaug, and H. E. Krokan, "A robust, sensitive assay for genomic uracil determination by LC/MS/MS reveals lower levels than previously reported," *DNA Repair (Amst.)*, vol. 12, no. 9, pp. 699–706, Sep. 2013.
- [21] B. C. Blount and B. N. Ames, "Analysis of uracil in DNA by gas chromatography-mass spectrometry.," *Analytical biochemistry*, vol. 219, no. 2, pp. 195–200, Jun-1994.
- [22] M. Liuzzi and M. Talpaert-Borlé, "A new approach to the study of the base-excision repair pathway using methoxyamine.," *J. Biol. Chem.*, vol. 260, no. 9, pp. 5252–8, May 1985.

- [23] S.-U. Lari, C.-Y. Chen, B. G. Vertéssy, J. Morré, and S. E. Bennett, "Quantitative determination of uracil residues in *Escherichia coli* DNA: Contribution of ung, dug, and dut genes to uracil avoidance.," *DNA Repair (Amst)*., vol. 5, no. 12, pp. 1407–20, Dec. 2006.
- [24] Y. W. Kow and a Dare, "Detection of abasic sites and oxidative DNA base damage using an ELISA-like assay.," *Methods*, vol. 22, no. 2, pp. 164–9, Oct. 2000.
- [25] R. Ko and S. E. Bennett, "Physical and functional interaction of human nuclear uracil-DNA glycosylase with proliferating cell nuclear antigen.," *DNA Repair (Amst)*., vol. 4, no. 12, pp. 1421–31, Dec. 2005.
- [26] K. Torseth, B. Døseth, L. Hagen, C. Olaisen, N.-B. Liabakk, H. Græsmann, A. Durandy, M. Otterlei, H. E. Krokan, B. Kavli, and G. Slupphaug, "The UNG2 Arg88Cys variant abrogates RPA-mediated recruitment of UNG2 to single-stranded DNA.," *DNA Repair (Amst)*., vol. 11, no. 6, pp. 559–69, Jun. 2012.
- [27] Shuangli Guo, "Role of Replication Protein A (RPA) and Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) in DNA mismatch repair," University of Kentucky, 2005.
- [28] K. Krusong, E. P. Carpenter, S. R. W. Bellamy, R. Savva, and G. S. Baldwin, "A comparative study of uracil-DNA glycosylases from human and herpes simplex virus type 1.," *J. Biol. Chem.*, vol. 281, no. 8, pp. 4983–92, Feb. 2006.
- [29] "UV CROSSLINKING OF NUCLEIC ACIDS TO NITROCELLULOSE AND NYLON MEMBRANES." [Online]. Available: <http://www.spectroline.com>.

Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt szeretnék köszönetet mondani Dr. Vértessy Beátának, témavezetőmnek, amiért lehetőséget kaptam tőle, hogy kutatócsoportjában dolgozhassak, valamint, hogy figyelemmel követte és segítette munkámat.

Köszönettel tartozom Scheer Ildikónak, konzulensemnek, valamint Róna Gergőnek, akiktől rendkívül sokat tanulhattam, valamint segítségemre volt bármilyen felmerülő kérdéssel kapcsolatban.

Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni a labor összes többi tagjának is minden segítségét, és, hogy felmerülő kérdéseimmel bármikor bizalommal fordulhattam hozzájuk.

Tételes szerzői hozzájárulás

Alulírott NAGY KINGA..... a dolgozatban leírt munkafolyamatok közül a:

- Uracil tartalmú plazmid előállítása
- Genomi DNS izolálás *Escherichia coli* sejtekből
- Klónozás pET20b vektorba
- UNG konstruktok transzformálása BL21 sejtekbe
- A fehérjék próba expressziója
- DNS koncentráció meghatározás Nanodrop UV-spektrofotométerrel
- DNS minták vizsgálata agaróz gélelektroforézissel
- Elektroforetikus mobilitás teszt (EMSA)
- Agaróz-assay
- A fehérjék próba expressziója
- A dot-blot módszer optimalizálása
- A dot-blot módszer kvantifikálása

végeztem el.

Budapest, 2014. 04. 24.

Nagy Kinga.....