

DNA-DNA límingar með hitastöðugum RNA lígasa úr *Thermus scotoductus* bakteríuveirunni TS2126

Unnur Unnsteinsdóttir¹⁾, Arnþór Ævarsson²⁾, Jakob K. Kristjánsson²⁾ og Snorri Þór Sigurðsson¹⁾.

¹⁾ Raunvísindastofnun Háskóla Íslands, Dunhaga 3, 107 Reykjavík. unnuru@hi.is

²⁾ Prokaria, Gylfaflöt 5, 112 Reykjavík

Ágrip: Kjarnsýrulígasar líma saman tvo kjarnsýrustrendinga og eru mjög nytsamlegir í sameindalíffræði. Lígasar líma saman 5'-fosfat og 3'-hýdroxýl enda RNA og/eða DNA strendinga í þriggja skrefa hvarfi sem þarfnast ATP og tvígildra málmjóna. Við lýsum eiginleikum hitastöðugs RNA lígasa, TS2126 RNA lígasa, úr bakteríuveirunni TS2126 sem sýkir hitakæru bakteríuna *Thermus scotoductus*. Hvarfaðstæður fyrir límingar tveggja DNA strendinga voru hámarkaðar og sýnt að heimtur slíkra líminga eru mjög góðar. Þar sem TS2126 RNA lígasinn hringlímur einþátta strendinga á mjög skilvirkan hátt þurfti að hindra 3'-enda 5'-fosfórýleraða strendingsins í þessum tilraunum. Við höfum líka skoðað áhrif lengdar DNA strendinga og byggingar kirna á 5'- og 3'-enda þeirra á límingaheimtur. Áhrif þess að nota DNA spelku til að færa tvo strendinga nær hvor öðrum til að auka heimtur líminga voru líka könnuð. Margar afurðir mynduðust í þessum tilraunum, m. a. vegna skilvirkrar límingar spelkunnar við hina strendingana. Þessar niðurstöður voru raktar að hluta til óvæntrar 5'-fosfórýleringarvirkni. Að lokum var sýnt fram á mögulega notkun TS2126 RNA lígasa í genasmíðum með límingu þriggja DNA strendinga í röð.