

Kokkuvõte

DNA replikatsioon on rakkudes fundamentaalne protsess ja selle seos mitmete patoloogiatega, näiteks vähk, teeb sellest olulise uurimisala molekulaarbioloogias. DNA replikatsiooni võib jagada kolmeks põhiliseks etapiks: initsiatsioon, elongatsioon ja terminatsioon. Praeguse seisuga põhineb enamik teadmisi DNA replikatsiooni initsiatsiooni kohta andmetel, mis pärinevad pärmi süsteemidest. Sinna hulka kuulub ka täielik biokeemiline *in vitro* rekonstitutsioon pärmi valkudega protsessist nimega *origin firing*. DNA replikatsiooni inimestes erineb pärmist mitmel moel ning seda pole veel nii põhjalikult uuritud. Paljudele olulistele *Origin firing* faktoritele pole leitud hästi kirjeldatud inimhomolooge.

Proksimaalne märgistamine on hiljuti arendatud uurimismeetodite grupp, millest on olnud kasu valkude komplekside ja teiste bioloogiliste protsesside uurimisel, kasutades proteoomikat. Proksimaalne märgistamine kasutab inseneeritud ensüümi, mis genereerib reaktiivse radikaali, millel on võime märgistada biomolekule. Split-TurboID on üks uuematest sinna kuuluvatest meetoditest. Split-TurboID kasutab ensüümi, mis on jaotatud kaheks fragmendiks ning vajab sellega ühendatud valkude kontakti, et rekonstrueerida aktiivne ensüüm. Sellega võimaldatakse ajutiste interaktsioonide detekteerimist rakkudes. Tegemist võib olla suurepärase meetodiga, millega uurida DNA replikatsiooni inimrakkudes.

Selle projekti eesmärk oli optimeerida *split-TurboID* meetodit DNA replikatsiooni initsiatsiooni uurimiseks. Selleks loodi ja katsetati mitmeid erinevaid split-TurboID fusioon konstruktide kombinatsioone. Töö käigus avastati mitmeid neid kombinatsioone, mis on võimelised märgistama ajutisi *origin firing* faktoreid. Projekti jooksul loodud konstrukte ja katsetatud kombinatsioone on tulevikus võimalik kasutada inimrakkudes DNA replikatsiooni uurimiseks.