

Restrikcijos endonukleazės (REazės) yra vieni dažniausiai naudojamų fermentų molekulinėje biologijoje, todėl ieškoma alternatyvių kelių REazių specifiskumo variantų padidimui. Deja, po nesėkmingų kryptingo restrikcijos fermentų substratinio specifiskumo keitimo eksperimentų, pastaruoju metu ima vyrauti nuomonė, kad tik atsitiktinė mutagenėzė arba jos derinimas su tam tikrų aminorūgščių kryptingu keitimu gali padėti sukurti naujo specifiskumo REazes, kurių atranka neįmanoma be efektyvių *in vivo* atrankos metodų. Biotechnologijos instituto Prokariotų genų inžinerijos laboratorijoje buvo iškelta hipotezė: derinant posegregacinio ląstelių žudymo (PSŽ) efektą ir persidengiančių DNR sekų metilinimą, galima vykdyti naujo specifiskumo mutantinių REazių atranką. Darbo objektu pasirinkta IIS potipio R–M sistemų pora Eco31I (5'-GGTCTC-3')/Alw26I (5'-GTCTC-3'), kurių atpažįstamos DNR sekos persidengia. SOS atsako indikatoriniam kamienui ER1992 ekspresuojant temperatūrai jautrios (ts) replikacijos plazmidę, koduojančią *alw26IM*, ir stabilią plazmidę, koduojančią atsitiktinai mutuočius *eco31IR* genus, bei wt *eco31IM*, nepalankiomis (PSŽ) ts replikacijos plazmidei sąlygomis būtų galima atrinkti pakeisto arba pakitusio specifiskumo restrikcijos fermentus. Po ts plazmidės pametimo, SOS atsakas bus sukeliamas tose ląstelėse, kurios turės plazmides koduojančias mutantines REazes (atpažįstama seka – 5'-XGTCTC-3). Darbo metu buvo atrinktos 8-ios pakitusio specifiskumo mutantinės REazės. Mutacijų analizė parodė, kad 6-iose mutantuose Eco31I DNR specifiskumo pakitimą įtakojo D231V mutacija. Kituose mutantuose specifiskumo pakitimą lėmė E71V arba Q69R, K127I mutacijos. Mutantinės REazės Eco31I^{Q69R+K127I} DNR specifiskumo analizė parodė, kad mutantinis fermentas atpažino ir karpė ne tik kanoninę 5'-GGTCTC-3' seką, bet ir 5'-TGTCTC-3' bei 5'-AGTCTC-3' sekas, pirmenybę teikdamas taikiniams 5' gale turintiems T. Taigi, nustatytas Eco31I^{Q69R+K127I} mutanto DNR specifiskumas - 5'-(G/W)GTCTC-3', kur W yra A arba T. Gauti rezultatai rodo, kad PSŽ efektu paremta mutantų atranka gali būti sėkmingai taikoma katalitiškai aktyvių mutantinių REazių atrankai.