

Приложение

ТОЧЕЧНЫЕ МУТАЦИИ V546E И D547H В МОТИВЕ RBM-B НЕ ВЛИЯЮТ НА СВЯЗЫВАНИЕ ПРАЙМАЗЫ-ПОЛИМЕРАЗЫ PRIMPOL С РЕПЛИКАТИВНЫМ БЕЛКОМ A И ДНК

А.А. Манукян^a, А.В. Макарова^{a, b}, Е.О. Болдинова^{a, b *}

^a Научно-исследовательский центр “Курчатовский институт”, Москва, 123182

^b Институт биологии гена Российской академии наук, Москва, 119334

* e-mail: lizaboldinova@yandex.ru

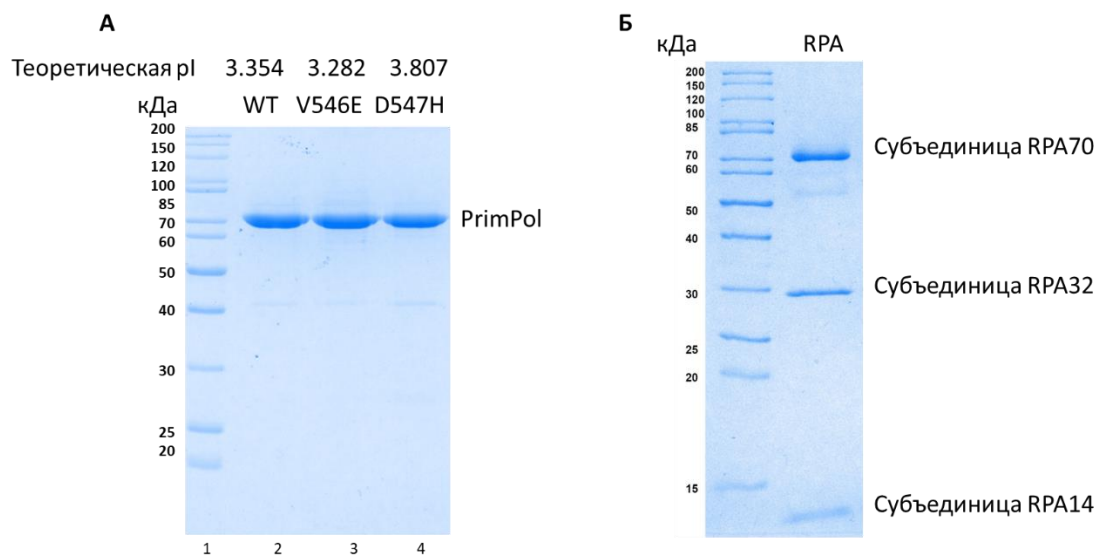
Приложение 1. Методика получения мутантных форм PrimPol

Мутантные варианты PrimPol человека были получены с помощью сайт-направленного мутагенеза в ходе ПЦР с праймерами, несущими нуклеотидные замены (таблица 2) по протоколу [30]. Полученные ПЦР-продукты обрабатывали метил-зависимой рестриктазой *Mall* (Сибэнзим) при 37°С в течении 2 ч для удаления исходной плазмидой ДНК. Полученной смесью трансформировали клетки *E. coli* и из отдельных колоний выделяли плазмидную ДНК. Наличие целевой мутации и отсутствие нежелательных замен подтверждали в гене *PRIMPOL* с помощью секвенирования по Сэнгеру.

Таблица S1. Праймеры для сайт-направленного мутагенеза

Форма PrimPol	Праймер прямой	Праймер обратный
V546E	TGAAGAGGATGAAATTCCT	TTCATCCTCTTCACTGTTATA
D547H	GTGCATGAAATTCCTGATG	TTTCATGCACTTCACTGTTA

Приложение 2. Электрофореграмма препаратов белков, использованных в работе. **А.** Препараты PrimPol дикого типа и вариантов V546E и D547H. **Б.** Препарат белка RPA.



Приложение 3. Вытеснение цепи PrimPol и вариантами V546E и D547H в присутствии RPA. **А.** Электрофореграмма реакция вытеснения цепи PrimPol и вариантами V546E и D547H. Реакции проводили в присутствии 1 мМ $MnCl_2$. Для получения ДНК-субстрата с брешью Template-55 отжигали с Primer-18 и запирающим Primer-32 в соотношении 1:1:1. **Б.** График, отражающий эффективность вытеснения цепи в зависимости от времени реакции. Представлены средние значения и стандартные ошибки.

