

Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

Особенности механизма взаимодействия ДНК-метилтрансферазы SsoII с ДНК, содержащей регуляторный участок

Мигур А.Ю.¹, Рязанова А.Ю.²

1 - МГУ - Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, 2 - Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия
E-mail: anzhelamigur@mail.ru

С5-цитозиновая ДНК-метилтрансфераза SsoII (M.SsoII) из штамма *Shigella sonnei* 47 узнает в двуцепочечной ДНК последовательность 5'-CCNGG-3'/3'-GGNCC-5' (N = A, C, G, T) и метилирует в ней внутренний остаток dC. N-концевой домен M.SsoII обеспечивает функционирование этого белка как фактора транскрипции. Для выполнения этой функции M.SsoII специфически связывается с 15-звенным инвертированным повтором (регуляторным участком) в промоторной области генов системы рестрикции-модификации SsoII.

В данной работе методом «остановленного потока» исследована кинетика связывания M.SsoII с 60-звенным ДНК-дуплексом, содержащим регуляторный участок. Кинетика процесса изучена при постоянной концентрации флуоресцентно меченной ДНК и разных концентрациях белка. Экспериментальные данные позволяют описать связывание M.SsoII с ДНК-дуплексом, содержащим регуляторный участок, как двухстадийную реакцию: две молекулы белка последовательно присоединяются к ДНК. Константы скорости ассоциации и диссоциации для первой стадии составляют $k_1 = 331 \pm 8 \text{ мкМ}^{-1} \text{ с}^{-1}$ и $k_{-1} = 49,1 \pm 0,6 \text{ с}^{-1}$, для второй стадии – $k_2 = 46,4 \pm 1,3 \text{ мкМ}^{-1} \text{ с}^{-1}$ и $k_{-2} = 15,1 \pm 1,1 \text{ с}^{-1}$.

Рассмотрено влияние аденинового тракта (последовательности из четырех остатков аденина подряд), окружающей регуляторный участок в природной ДНК, на формирование комплекса M.SsoII с этой ДНК. Известно, что полиадениновый тракт образует изгиб в ДНК (Naran and Mohanty. *Q. Rev. Biophys.* 2009. 42(1):41-81). Изучали связывание M.SsoII с ДНК-дуплексами, содержащими и не содержащими адениновые тракты с обеих сторон от регуляторного участка. Эффективность комплексообразования одинакова для разных ДНК-дуплексов в пределах погрешности измерения. Таким образом, наличие адениновых трактов, фланкирующих регуляторный участок в природной последовательности ДНК, не является необходимым для образования комплекса с M.SsoII, способного регулировать транскрипцию. По-видимому, вносимый ими в общую структуру ДНК изгиб является небольшим и не играет роли при формировании комплекса с M.SsoII.

Тезисы доклада основаны на материалах исследований, проведенных в рамках грантов «Международные научные группы с участием молодых ученых» (RFBR-DFG 11-04-91336) и грантов РФФИ (12-04-32103 и 13-04-00615).

Слова благодарности

Авторы выражают благодарность Н.А. Тимофеевой за помощь в изучении кинетики методом «остановленного потока».