

Сравнительный анализ трехмерных структур и свойств природной и мутантных форм никующей эндонуклеазы BspD6I

Научный руководитель – Абросимова Людмила Алексеевна

Агаева З.Ф.¹, Абросимова Л.А.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, E-mail: zaraagaeva5@gmail.com; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, E-mail: abrludmila@rambler.ru

Никующие эндонуклеазы (НЭ) представляют собой ферменты, способные гидролизовать одну из цепей двутяжевой ДНК: они узнают специфичную последовательность длиной 4-8 пар нуклеотидов и в фиксированном месте вносят разрыв в одну цепь ДНК непосредственно в самом участке узнавания или вне его. Как правило, НЭ называют одну из субъединиц гетеродимерной эндонуклеазы рестрикции (ЭР), которая обладает никующей активностью. В свою очередь ЭР вместе с метилтрансферазой образуют систему рестрикции-модификации. Основная функция таких систем - защита бактериальной клетки от проникновения в нее чужеродного генетического материала. НЭ и их роль в жизнедеятельности бактерии еще недостаточно изучены. Кроме того, эти ферменты представляют собой предмет научного интереса как инструмент, применимый в биотехнологической практике.

В данной работе проведен сравнительный анализ трехмерных структур и свойств природной и мутантных форм НЭ BspD6I, выделенной из термофильного штамма *Bacillus species D6*. Большая субъединица BspD6I (Nt.BspD6I) проявляет никующую активность: она узнает последовательность 5'-GAGTC-3'/5'-GACTC-3' и на расстоянии 4 нуклеотидов от нее в направлении 3'-конца гидролизует верхнюю цепь двутяжевой ДНК [1].

Методом РСА ранее были решены 3D структуры нативной и мутантных форм Nt.BspD6I: Nt.BspD6I (PDB ID: 2EWF), Nt.BspD6I(D456A) (5LHC), Nt.BspD6I(C160S,C508S,C578S) (5LIQ), Nt.BspD6I(C11S,C160S,C508S,C578S) (5LIZ); однако структуру комплекса данной НЭ с ДНК пока получить не удалось. В связи с этим актуальность задачи касается определения аминокислотных остатков (а.о.), способных взаимодействовать с ДНК.

С помощью молекулярного визуализатора PyMOL показано, что в мутантной форме 5LHC положения а.о. в активном центре отличаются от положений а.о. активного центра дикого типа, что, вероятно, объясняет отсутствие каталитической активности у данной мутантной формы. Для мутантных форм 5LIZ и 5LIQ обнаружено отклонение в положении в пространстве некоторых а.о., в которых произошла замена, относительно положения этих же а.о. в диком типе Nt.BspD6I. Также с помощью программного пакета PyMOL APBS проанализировано распределение зарядов на поверхности исследуемых белков. Методом гель-электрофореза показано, что эффективность гидролиза 30-звенного ДНК-субстрата при различных концентрациях KCl диким типом Nt.BspD6I и мутантной формой Nt.BspD6I(C11S,C160S,C508S,C578S) практически не отличается. В целом замена всех остатков Cys фермента на Ser существенным образом не влияет на его структуру и каталитическую активность.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ (№ 18-74-00049).

Источники и литература

- 1) Л.А. Железная, Г.С. Качалова, Р.И. Артюх, А.К. Юнусова, Т.А. Перевязова, Н.И. Матвиенко. Никующие эндонуклеазы // Успехи биологической химии, 2009, т. 49, с. 107-128.