Секция «Структурная биология и биоинженерия»

Изучение структуры специфического комплекса белка NEIL2 человека с ДНК

Научный руководитель – Коваль Владимир Васильевич

Жданова Полина
Аспирант
Новосибирский государственный университет, Факультет естественных наук, Новосибирск, Россия
E-mail: chem13342@gmail.com

Различные факторы окружающей среды, такие как ультрафиолетовое и ионизирующее излучение, загрязнение воздуха и др., влияют на повреждение геномной ДНК, что, в свою очередь, отрицательно воздействует на живые организмы. Но в каждом организме существует система репарации, которая устраняет повреждения ДНК, возникающие в процессе жизнедеятельности. Так, в процессе эксцизионной репарации (BER) удаляются поврежденные азотистые основания. Первый этап BER реализуется за счет активности ферментов - ДНК-гликозилаз. Такие специализированные ферменты разделяют на два семейства: суперсемейство HhH, включающее эндонуклеазу III (или Nth), и семейство Fpg/Nei, которое включает ДНК-гликозилазу формамидопиримидина (или Fpg) и эндонуклеазу VIII (или Nei). В организме человека такую активность проявляет фермент NEIL2 (Endonuclease VIII -like 2) специфично к 5-гидроксиурацилу и другим окисленным производным цитозина. В процессе своей работы фермент расщепляет остов ДНК путём *β,δ-элиминирования* с образованием одноцепочечного разрыва. В результате реакции расщепления остается 3'-концевой ненасыщенный сахар и продукт с концевым 5'-фосфатом.

Несмотря на то, что активность фермента NEIL2 довольно хорошо изучена [1-3], до сих пор в базе данных PDB отсутствует его структура. Нами было проведено молекулярное моделирование трёхмерной структуры белка NEIL2 с модельным олигонуклеотидным дуплексом. Трёхмерная структура NEIL2 была получена моделированием по гомологии на веб-сервисе phyre2, где в качестве гомолога был выбран Fpg E.Coli. Полученная структура была обработана в UCSF Chimera для получения структуры белка. Известно, что NEIL2 содержит в своей структуре цинковый палец (ZnF), который относится к типу C3H1 (Cys3His1). Ион Zn^{2+} был добавлен к полученному комплексу и оптимальное положение было подобрано с помощью сервера CheckMyMetal. Комплекс NEIL2 с модельным дуплексом, содержащим тетрагидрофуран в качестве повреждённого основания, также был получен с помощью UCSF Chimera. Молекулярная динамика была проведена с использованием программного обеспечения для моделирования молекулярной динамики AMBER в течение 100 нс. В качестве силовых полей использовали ff14SB для белка и bsc1 для ДНК, в качестве растворителя использовалась модель неявной воды. Анализ молекулярного кино показывает, что молекулярный ансамбль стабилен на протяжении всей молекулярной динамики.

Наряду с молекулярным моделированием изучение структуры комплекса белка человека NEIL2 с ДНК-субстратом проводилось методом масс-спектрометрии, основанной на водородно-дейтериевом обмене - HDX-MS.

Работа поддержана РФФИ, грант № 19-34-90052.

Источники и литература

1. Hazra TK, Kow YW, Hatahet Z, et. al.: Identification and characterization of a novel human DNA glycosylase for repair of cytosine-derived lesions. / J. Biol. Chem. 2002.

2. Bhakat KK, Hazra TK, Mitra S.: Acetylation of the human DNA glycosylase NEIL2 and inhibition of its activity./ Nucleic Acids Research, 2004.
3. Dou H, Mitra S, Hazra TK.: Repair of oxidized bases in DNA bubble structures by human DNA glycosylases NEIL1 and NEIL2./ J Biol Chem. 2003.