

Влияние замен Cys на эндонуклеазную активность белка MutL *Neisseria gonorrhoeae***Научный руководитель – Савицкая Виктория Юрьевна*****Литвинова Анастасия Васильевна****Студент (специалист)*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия*E-mail: nas-lit@bk.ru*

Главными участниками системы репарации «мисматчей» (MMR) патогенной бактерии *Neisseria gonorrhoeae* являются белки MutS (ngMutS), узнающий неканоническую пару оснований, и MutL (ngMutL), который с участием АТФ вносит одноцепочечный разрыв в «дочернюю» цепь ДНК, инициируя удаление «мисматча». Штаммы этой бактерии с делециями генов *mutS* и *mutL* спонтанно развивали устойчивость к антибиотикам [1].

ngMutL имеет N-концевой и C-концевой домены. Последний отвечает за эндонуклеазную активность белка. В нем локализованы консервативные металлсвязывающие мотивы, участвующие в координации ионов двухвалентных металлов, из которых наиболее значимыми считаются ионы марганца, магния и цинка. У большинства гомологов MutL из разных организмов ионы марганца или магния непосредственно вовлечены в гидролиз. Ионы Zn^{2+} обычно не активируют эндонуклеазную активность MutL, но в присутствии Mg^{2+} и Mn^{2+} могут влиять на расщепление ДНК [1]. Металлсвязывающие мотивы ngMutL содержат Cys в консервативных позициях. Замены Cys у большинства гомологов MutL приводят к инактивации системы MMR *in vivo*, что связывают с потерей цинк-связывающей активности MutL [1]. Целью нашей работы являлось установление влияния замен всех Cys (в том числе консервативных) в белке MutL из *N. gonorrhoeae* на инициацию репарации «мисматчей».

Изучаемый мутантный белок MutL из *N. gonorrhoeae* (ngMutL^{cf}) имеет замены C171I, C251L, C528A, C604S и C635S. Показано, что Cys белка не являются ключевыми аминокислотными остатками (а.о.) для гидролиза, так как ngMutL^{cf} наряду с белком дикого типа (ngMutL^{wt}) способен вносить разрыв в плазмидную ДНК в присутствии Mg^{2+} и Mn^{2+} . В присутствии Zn^{2+} наблюдалось ингибирование эндонуклеазной активности ngMutL^{wt} и ngMutL^{cf} вплоть до полного отсутствия «никованных» форм ДНК. Анализ структур белков с помощью сервиса МІВ показал, что Cys белка дикого типа участвуют в координации Zn^{2+} , но функционально заменяются другими а.о. в ngMutL^{cf} [2]. Таким образом, ранее продемонстрированная инактивация MMR *in vivo* после замены Cys в гомологах MutL не связана с потерей цинк-связывающей способности белка.

На линейной ДНК показана эндонуклеазная активность ngMutL^{wt} в комплексе с β -субъединицей ДНК-полимеразы III (ng β). В условиях, оптимальных для белка дикого типа, ngMutL^{cf} не вносил разрывов в субстрат. Изменение концентрации АТФ или присутствие ионов других металлов не приводило к активации мутантного белка. По-видимому, замены Cys ведут к изменению взаимодействия белков ngMutL и ng β . Это предположение подтверждено результатами моделирования их комплекса.

Работа выполнена при поддержке РФФ (проект № 21-14-00161).

Источники и литература

- 1) Монахова М.В., Милакина М.А., Савицкая В.Ю., Романова Е.А., Rao D.N., Кубарева Е.А. «Белок MutL из системы репарации мисматчей бактерии *Neisseria gonorrhoeae*: взаимодействие с АТР и ДНК». Мол. биол., т. 55, № 2, pp. 289-304, 2021.

- 2) <http://bioinfo.cmu.edu.tw/MIB/> (Metal Ion-Binding site prediction and docking server)