

Анализ возможности связывания С-концевого домена MutL и его мутантной бесцистеиновой формы с фактором процессивности ДНК-полимеразы пакетом программ Schrodinger**Научный руководитель – Базанов Даниил Романович***Базанов Д.Р.¹, Савицкая В.Ю.²*

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Химический факультет, Кафедра медицинской химии и тонкого органического синтеза, Москва, Россия, *E-mail: daniil_bazanov@mail.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Химический факультет, Кафедра химии природных соединений, Москва, Россия, *E-mail: daniil_bazanov@mail.ru*

Система репарации ошибочно спаренных нуклеотидов или «мисматчей» ДНК (MMR) занимает важнейшее место в поддержании нормального функционирования организма. MMR защищает ДНК клетки от мутаций, появляющихся в ходе нарушений работы фермента ДНК-полимеразы, снижая риск развития патогенных процессов. Несмотря на многочисленные работы в этой области, биохимия процесса остается не до конца изученной. Известно, что в инициации репарации на стадии поиска «мисматчей» и внесения разрыва в поврежденную цепь ДНК ключевая роль принадлежит белкам MutS и MutL, соответственно. Предполагают, что фактор процессивности ДНК-полимеразы клетки (PCNA у эукариот и b-«зажим» у прокариот) задействован в распознавание «дочерней» цепи ДНК белком MutL, а также оказывает влияние на скорость и эффективность процесса репарации. Известен консервативный мотив аминокислотных остатков (а.о.) ⁵¹⁷QHLLIP⁵²² С-концевого домена MutL (CTD-MutL), предположительно вовлеченный в формирование белкового комплекса с фактором процессивности ДНК-полимеразы. Однако непосредственное взаимодействие этих ферментов до сих пор не было показано ни *in silico*, ни *in vivo*.

Целью настоящей работы являлся анализ возможных форм связывания CTD-MutL с фактором процессивности ДНК-полимеразы (b-«зажимом») на примере белков из системы репарации бактерии *Neisseria gonorrhoeae*. В качестве моделей нами использованы swiss model b-«зажима» (Q5FAJ1), структура CTD-MutL^{wild} (PDB - 3NCV) и ее бесцистеиновая мутантная форма (CTD-MutL^{mut}), по непонятным на сегодняшний день причинам утратившая активность в экспериментах *in vivo* [1]. Анализ проводили с помощью пакета программ Schrodinger. На первом этапе нами осуществлена подготовка структур, а также внесены точечные мутации в положения C532A, C635S, C604S в 3NCV обеих цепей для получения структуры CTD-MutL^{mut}. Все структуры перед докинггом оптимизированы методом молекулярной динамики. Для CTD-MutL^{wild} и CTD-MutL^{mut} (цепи А, В на рис.1А и 1В) получены 30 наиболее вероятных поз связывания с b-«зажимом» (цепь С на рис.1А и 1В) из 70000 вариантов, которые ранжированы по геометрическому средству. Затем полученные позы дополнительно оптимизировали в воде методом молекулярной динамики для проверки устойчивости комплексов и анализа количества взаимодействий. Показано, что геометрия связывания в обоих случаях не нарушает функцию b-«зажима», так как не затрагивает область связывания фермента с ДНК (рис.1С). Анализ количества взаимодействий позволяет заключить, что после молекулярной динамики количество взаимодействий b-«зажима» с CTD-MutL^{wild} увеличивается (с 11 до 14), в то время как для CTD-MutL^{mut} количество взаимодействий падает (с 10 до 6). Таким образом, инактивация системы MMR в результате мутаций а.о. Cys в белке MutL, продемонстрированная *in vivo*, может быть следствием менее эффективного комплексообразования между b-«зажимом» и CTD-MutL^{mut} по сравнению с формой белка дикого типа.

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 АТФ и ДНК». Мол. биол., т. 55, № 2, pp. 289-304, 2021.

Иллюстрации

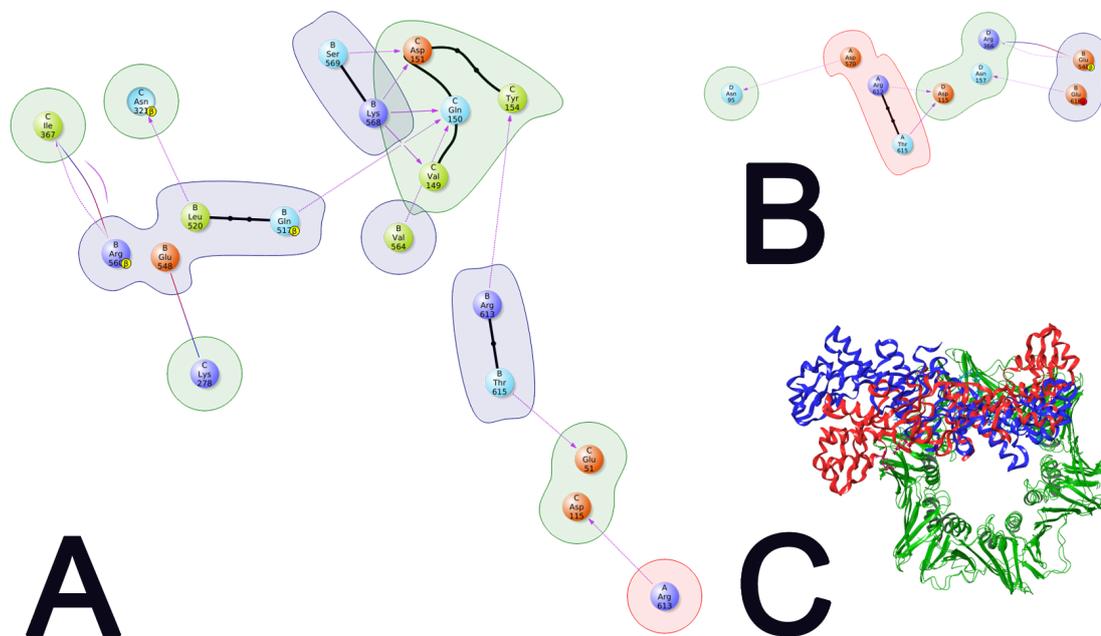


Рис. 1. А. Карта взаимодействий CTD-MutL(wild) с b-«зажимом». В. Карта взаимодействий CTD-MutL(mut) с b-«зажимом». С. Позы связывания CTD-MutL(wild) (синий) и CTD-MutL(mut) (красный) с b-«зажимом» (зеленый).