

Изучение состояния ионизируемых групп в активном центре комплекса Frg-ДНК методом ЭПР

И. А. Литвинов^{1,3}, С.С. Овчеренко^{1,3}, Н.А. Булгаков^{2,3}, И.А. Кирилюк¹, Д.О Жарков^{2,3} и
Е.Г. Багрянская¹

¹ Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, 630090,
Российская Федерация, г. Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, д.9

² Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090,
Российская Федерация, г. Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, д.8

³ Новосибирский государственный университет, 630090, Российская Федерация, г.
Новосибирск, ул. Пирогова, д. 1

E-mail: i.litvinov1@g.nsu.ru

Фермент Frg распознает и удаляет у бактерий из ДНК окисленные гетероциклические основания пуринового ряда. В активном центре Frg имеется фрагмент Pro1-Glu2, играющий критически важную роль в гликозилазной активности данного белка, и мутация любого аминокислотного остатка в этом фрагменте приводит к потере активности Frg. Ранее методом молекулярной динамики было показано, что мутация E2Q, в которой Glu2 заменён на Gln2, приводит к существенным изменениям электростатических взаимодействий в активном центре фермент-субстратного комплекса [1].

Целью данной работы являлось экспериментально установить состояние ионизации активного центра для белка дикого типа – Frg и инактивированного мутанта – E2Q и выявить, есть ли различия. Для этого мы использовали метод ЭПР с применением спиновой метки на основе нитроксильного радикала имидазолидинового ряда, чувствительной к физиологическому диапазону pH [2]. Нами были сконструированы дуплексы ДНК с одноцепочечным разрывом, к которым Frg и E2Q обладают специфическим сродством. Спиновая метка вводилась на 5' или 3' концы олигонуклеотидов в дуплексах ДНК, расположенные у места разрыва, чтобы при образовании фермент субстратного комплекса метка попадала в его активный центр. Спектры ЭПР соответствуют низкой мобильности спиновой метки и показали небольшое различие при образовании комплекса спин-меченных дуплексов ДНК с белком дикого типа – Frg и инактивированного мутанта – E2Q. В работе метод модуляции спинового эха применялся для определения доступности растворителя к радикальному центру спиновой метки при образовании комплексов.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (21-14-00219).

Литература

- [1] R. A. Perlow-Poehnelt, D. O. Zharkov, A. P. Grollman & S. Broyde, *Biochemistry*. **2004.**, 43(51), 16092-16105.
[2] M. A. Voinov, A. I. Smimov, *Electron Paramagnetic Resonance*. – **2010.** – С. 71-106.