

DNR sekos kirpimo mechanizmo aktyvaus centro modeliavimas restrikcijos endonukleazėje

Active center modeling for DNA sequence cleavage in restriction endonuclease

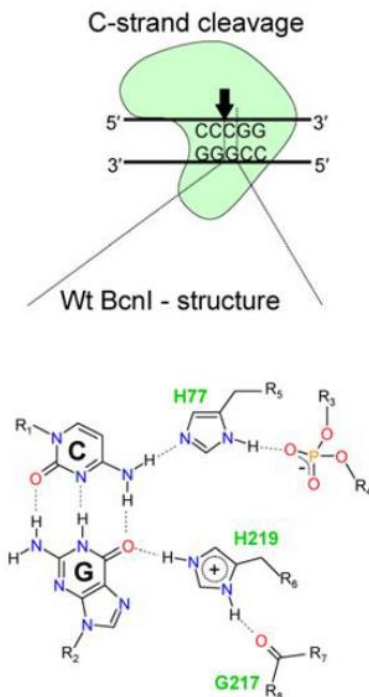
Laurynas Diska¹, Leonas Valkūnas^{1,2} Mindaugas Mačernis¹

¹Vilniaus universitetas, Fizikos fakultetas, Saulėtekio al. 9, LT-10222 Vilnius

²Fizinių ir technologijos mokslų centras, Saulėtekio al. 3, LT-10222 Vilnius

karolis.jasinevicius@ff.stud.vu.lt

Genų redagavimo įrankiai biotechnologijos mokslų sritį išskėlė į populiarumo aukštumas. Vis dėlto pagrindiniai klausimai, tokie kaip tikslus veikimo mechanizmas bei iš kur visa tai atsirado, dar nėra atsakyti. Šiandien jau žymiai daugiau yra žinoma apie grupuotas, reguliariais tarpais pasikartojančias trumpas palindromines sekas – CRISPR [1] (angl. Clustered, Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats), kurios yra aptinkamos deoksiribonukleino rūgštyje (DNR). DNR susideda iš deoksiribonukleotidų, kurie yra sudaryti iš heterociklinės azoto bazės ir angliavandenio deoksiribozės. Yra keturi pagrindiniai nukleotidai [1]: Adenas(A), Timinas(T), Citozinas(C) ir Guaninas (G), ir jie tarpusavyje skiriasi azoto bazėmis. Adenas sudaro porą kartu su Timinu, o Citozinas – su Guaninu.



1 pav. *BcnI* restrikcijos endonukleazės sąveikos su DNR nukleobazėmis (CG) aktyvusis centras

Kadangi DNR yra sukaupta visa informacija apie gyvybę, kartu su gyvybe vystėsi ir DNR apsaugos mechanizmai. Vienas iš šių apsaugos mechanizmų yra restrikcijos ir modifikacijos (RM) sistemos, kurias bakterijos ląstelė naudoja apsaugai nuo svetimos DNR ir bakteriofagų antpuolio. Paprastai, minėtos RM sistemos susideda iš dviejų fermentų: restrikcijos endonukleazės (REazės), kuri karo tik „svetimą“ DNR ir neliečia savos, bei metiltransferazės (MTazės), kuri pažymi „savo“ DNR. Šie fermentai veikia kaip „molekulinės žirklys“, kurios karo DNR. Šiame moksliniame tiriamajame darbe buvo naudojami būtent restrikcijos endonukleazės fermentai BcnI [2]. Darbu siekiama plačiau iširti kaip restrikcijos fermentai atpažįsta specifines sekas ir ar galima sukurti naujus restrikcijos fermentus, supratus jų sandarą ir veikimo principus. Darbo tikslas yra plačiau iširti BcnI baltymo restrikcijos endonukleazės fermento ir jo mutantų reakcijų aktyviuosius centrus, naudojantis kvantinės chemijos metodus.

1 pav. pusėje pavaizduotas 5'-CC/GGG-3' sekos atpažinimo mechanizmas ir C:G poros atpažinimo reakcijos aktyvusis centras. Analogiškas vaizdas yra 5'-CC/CGG-3' sekos atpažinimo mechanizmui su C:G poros atpažinimo reakcijos aktyviuoju centru. Iš viso yra 4 aktyvieji centrai. Jie buvo modeliuojami.

Darbe buvo naudojama QM/MM metodika, kur QM daliai naudojama DFT hibridinis tankio funkcionalas B3LYP, su 6-311G(d,p) bazinių funkcijų rinkiniu, o MM - pusempiris PM6 metodas. Išorinio sluoksnio atomai yra užšaldomi, tuomet atliekama pagrindinio sluoksnio geometrijos optimizacija. Nustatyta, kad skirtinguose centruose yra skirtingos ryšio energijos.

Reikšminiai žodžiai: bakteriorodopsinas, retinalis, tankio funkcionalo teorija.

Literatūra

[1] L. Heidi, *CRISPR'S Mysteries*. Nature. **280**, 541.19 (2017)

[2] M. Sokolowska, M. Kaus-Drobek, V. Siksnys, *Monomeric restriction endonuclease BcnI in the apo form and in an asymmetric complex with target DNA*, J. Mol. Biol. **369**: 722-734 (2007)