

Влияние однонуклеотидных полиморфизмов гена NEIL2 человека на функции соответствующих белковых вариантов в эксцизионной репарации оснований ДНК.

Научный руководитель – Грин Инга Ростиславовна

Кажхарова Зарина Исмаиловна

Студент (магистр)

Новосибирский государственный университет, Факультет естественных наук,
Новосибирск, Россия

E-mail: zarinkaapels@gmail.com

В живых клетках молекула ДНК постоянно подвергается модификациям эндогенными и экзогенными факторами. Для исправления таких повреждений живые организмы выработали защитные механизмы под общим названием репарация ДНК. Один из наиболее универсальных механизмов репарации ДНК, эксцизионная репарация оснований (ЭРО), включает удаление поврежденного нуклеотида и восстановление неповрежденной структуры ДНК. ЭРО инициируется высокоспецифичными ферментами ДНК-гликозилазами, поэтому изменения в генах, кодирующих ДНК-гликозилазы, может привести как к изменению функций фермента, так и ослабить репарацию ДНК в целом, что может приводить к накоплению мутаций в ДНК и способствовать онкологической трансформации клеток.

ДНК-гликозилаза человека NEIL2 дополнительно обладает уникальной способностью распознавать и удалять повреждения в одноцепочечной и «пузырьковой» структурах ДНК. «Пузырьковая» структура ДНК образуется во время транскрипции, что ставит ряд вопросов о необходимости такой функции фермента NEIL2 для репарации ДНК. С другой стороны, из литературных данных известно об ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) гена NEIL2 с онкологическими заболеваниями органов, в которых происходит активная транскрипция генов, в частности, одного из самых опасных - рака легкого. Тем не менее, такая информация не дает ответа на вопрос, приводит ли изменение структуры гена к изменению функций его белкового варианта.

Для поиска ответов мы провели анализ доступных биоинформатических баз данных SNP по полиморфным вариантам гена hNEIL2 в поиске SNP наиболее влияющих на структуру фермента, то есть приводящих к смене класса аминокислоты в консервативных регионах белка. Для изучения функций были выбраны два белковых варианта hNEIL2 (R103W) и hNEIL2 (P304T), содержащих замены аминокислот в области, связанной с каталитической функцией фермента и области, ответственной за связывание субстрата, соответственно. По данным проектов 1000genome и ExAC частоты встречаемости этих аллелей были равны MAF (Minor Allele Frequency) = 0,0148 для hNEIL2(R103W) и MAF = 0,0088 для hNEIL2(P304T). Далее были клонированы и выделены соответствующие рекомбинантные белки и белок дикого типа hNEIL2(WT), проведен сравнительный анализ субстратной специфичности, измерены кинетические характеристики. Согласно кинетическим параметрам, белки демонстрируют повышение ДНК-гликозилазной активности в ряду: двуцепочечная ДНК, одноцепочечная ДНК и ДНК, содержащая «пузырьковую» структуру, при этом полиморфный вариант hNEIL2 (P304T) показывает значительное понижение ферментативных активностей.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Новосибирской области в рамках научного проекта № 18-44-540029.