

Влияние 8-гидрокси-7-метилгуанина на взаимодействие PARP-1 с нуклеосомой

Научный руководитель – Малюченко Наталия Валериевна

Лобанова Ангелина Андреевна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биоинженерии, Москва, Россия

E-mail: angelina260503@mail.ru

Перспективная мишень для противоопухолевых препаратов – ядерный фермент PARP-1 (поли(АДФ-рибозо)полимераза-1), способный находить разрывы в ДНК и запускать процесс репарации путем маркирования окружающих белков синтезированными им полимерами АДФ-рибозы. В настоящее время существуют клинически одобренные ингибиторы белка PARP-1, такие как олапариб, рупартиб и нирапариб. Однако, по причине высокой токсичности, их использование в лечении онкологии ограничено [1]. Цель нашей работы – изучить нетоксичные природные производные азотистых оснований, как потенциальные ингибиторы белка PARP-1, которые позволили бы расширить спектр применения направленных на PARP-1 противоопухолевых препаратов.

В работе представлены результаты изучения соединения 8-гидрокси-7-метилгуанина (8h7MG). Исследование проводили с использованием нуклеосом, несущих донорно-акцепторную пару флуоресцентных меток в коровой области вблизи границ нуклеосомы. Изменение конформации нуклеосом в присутствии PARP-1 и 8h7MG изучали методом флуоресцентной микроскопии одиночных частиц на основе Фёрстеровского резонансного переноса энергии (spFRET-микроскопии). Образование комплексов нуклеосом с PARP-1 в присутствии 8h7MG наблюдали методом EMSA (гель-электрофорез в нативных условиях). Активность 8h7MG, как ингибитора, взаимодействующего с каталитическим доменом PARP-1, была показана методом вестерн-блоттинга.

По результатам spFRET анализа нативные нуклеосомы характеризуются пиком в области высоких значений относительной эффективности FRET (E_{pr}). При взаимодействии PARP-1 с нуклеосомами, наблюдается реорганизация их структуры, что детектируется как концентрационно-зависимое появление субпопуляции нуклеосом с более низким E_{pr}. Было показано, что в присутствии 8h7MG PARP-1 практически не вызывает конформационные изменения в нуклеосоме, и это может указывать на ингибиторное действие данного соединения. На гель-электрофорезе показано, что 8h7MG препятствует взаимодействию PARP-1 с нуклеосомами. Методом вестерн-блоттинга было выяснено, что 8h7MG снижает каталитическую активность PARP-1, поскольку частично ингибирует поли(АДФ-рибозил)ирование, в сравнении с референсным ингибитором олапарибом, который полностью ингибирует PARP-1.

Влияние 8h7MG на взаимодействие PARP-1 с нуклеосомой, а также на его каталитическую активность может быть рассмотрено для дальнейшего изучения производных азотистых оснований, как потенциальных ингибиторов белка PARP-1.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект №19-74-30003) и проекта исследовательских коллективов МГУ, выполняющегося в интересах Междисциплинарных научно-образовательных школ Московского университета (проект №23-Ш04-57).

Источники и литература

- 1) Kurgina T.A. et al. Inhibitory Effects of 7-Methylguanine and Its Metabolite 8-Hydroxy-7-Methylguanine on Human Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1 // *Biochemistry Moscow* 87, 2022. P. 823–831