**Связывание каталитического домена Dnmt3a мыши**

**с гуанин-богатыми ДНК-последовательностями промотора гена *MGMT***

***Генатуллина А.И., Сергеев А.В., Зверева М.Э.***

*Студентка, 5 курс специалитета*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,   
химический факультет, Москва, Россия*

*E-mail: adelyagenatullina@yandex.ru*

Метилирование ДНК – эпигенетический процесс модификации остатков цитозина в составе CpG-сайтов. За осуществление данного процесса отвечают ДНК-метилтрансферазы (МТазы). МТаза Dnmt3a отвечает за *de novo* метилирование. Одними из возможных регуляторов работы МТаз могут выступать гуаниновые квадруплексы (G4) – неканонические четырёхспиральные структуры ДНК, формирующиеся из гуанин-богатых ДНК-последовательностей и зачастую располагающиеся вблизи CpG-сайтов в промоторах онкогенов.

Нарушения метилирования ДНК приводят к развитию онкологических заболеваний. Статус метилирования промотора онкогена *MGMT* влияет на уровень экспрессии этого гена. Промоторные последовательности *MGMT* способны формировать G4, которые могут влиять на активность МТаз [1]. Целью данной работы стало изучение параметров и механизма связывания каталитического домена МТазы мыши Dnmt3a (Dnmt3a-CD) c участками промотора гена *MGMT.*

В качестве субстратов были использованы ДНК-последовательности из промотора гена *MGMT,* содержащиеCpG-сайты (табл. 1). Методом биослойной интерферометрии показано, что гуанин-богатый дуплекс Ds\_1 связывается с Dnmt3a-CD в 4 раза прочнее дуплекса Ds\_2, который менее богат GC-парами. Также установлено, что одноцепочечная гуанин-богатая ДНК-последовательность Olig\_1 из Ds\_1, формирующая G4, связывается с Dnmt3a-CD на порядок прочнее комплементарной ей цитозин-богатой цепи Olig\_2, что свидетельствует о высоком сродстве Dnmt3a-CD к G4.

Таблица 1. Константы диссоциации комплексов [Dnmt3a-CD – ДНК]

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ДНК-субстрат | Последовательность | *KD,* нМ |
| Ds\_1 | bt\* 5` - CTCCGCCCCCGCGCGCCCCGGCCC - 3`  3` - GAGGCGGGGGCGCGCGGGGCCGGG – 5` | 15 ± 0.5 |
| Ds\_2 | bt 5` - GGTCCTGCAGGCGCCCTCACTTCG – 3`  3` - CCAGGACGTCCGCGGGAGTGAAGC – 5` | 65 ± 2 |
| Olig\_1 | bt 5` - GGGCCGGGGCGCGCGGGGGCGGAG – 3` | 14 ± 0.4 |
| Olig\_2 | bt 5` - CTCCGCCCCCGCGCGCCCCGGCCC – 3` | 211 ± 21 |

\* bt – биотин

Методом поляризации флуоресценции было показано, что гуанин-богатая цепь Olig\_1 вытесняет модельный ДНК-дуплекс из комплекса с Dnmt3a-CD ввиду её большего сродства к ферменту. Таким образом, связывание неканонической структуры G4 и канонического двуцепочечного ДНК-субстрата происходит в одном и том же центре Dnmt3a-CD. На связывание Dnmt3a-CD с ДНК влияет как последовательность ДНК, так и ее топология. Гуанин-богатые последовательности *MGMT* и формируемые в них G4 могут быть сигналами для привлечения к этим участкам генома МТаз, регулируя уровень метилирования данных областей.

**Литература**

1. Sergeev A.V., Malyshev D. P., Genatullina A. I., Pavlova G. V., Gromova E. S., Zvereva M. I. Single-Molecule Nanopore Sequencing of the CpG island from the promoter of O6-Methylguanine-DNA Methyltransferase Provides Insights into the Mechanism of De Novo Methylation of G/C-Rich Regions // Epigenomes. 2025. Vol. 9. P. 4-21.