

Cinkujj-alapú mesterséges metallonukleázok funkcionális szerkezete

Fábián Zita^a, Németh Eszter^b, Gyurcsik Béla^a

^a Szegedi Tudományegyetem, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék

^b MTA-SZTE, Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoport

e-mail: fabianzit@gmail.com

A mesterséges nukleázok olyan enzimek, melyek segítségével egy tetszőlegesen kiválasztott DNS szekvencia hasítható el hidrolitikus módon. Egy ilyen enzim felhasználható a sejtekben a DNS molekulák megváltoztatására, hibás DNS szekvencia javítására. A nukleáz által elhasított DNS-t felismerve ugyanis működésbe lépnek a sejtek DNS-javító mechanizmusai a sérült DNS helyreállítása céljából. Egy alkalmas templát jelenlétében az ún. homológ rekombináció segítségével ily módon az eredetileg hibás DNS szekvencia helyére a helyes kód kerül. Ezzel az eljárással genetikai betegségeket lehetne a jövőben gyógyítani.

Kutatócsoportunk az elmúlt években a fentiek szerint próbált meg terápiás felhasználásra is alkalmas, biztonságos szabályozási mechanizmussal rendelkező mesterséges nukleáz kifejleszteni. A megtervezett fehérjék alapjául a cinkiont tartalmazó Colicin E7 nukleáz doménje (NColE7) szolgált, melynek katalitikus és szabályozó, C-, illetve N-terminális szegmenseit linker szekvenciákon keresztül egy három cinkujjból álló – a kiválasztott specifikus DNS szekvencia felismerését szolgáló – fehérje két végéhez kapcsoltuk [1]. Különböző hosszúságú NColE7 szegmenseket felhasználva, három mesterséges nukleáz molekulát alakítottunk ki, melyek oldatbeli szerkezetét, illetve Zn(II)-ionokkal és DNS-sel kialakuló kölcsönhatásait cirkuláris dikroizmus spektroszkópia segítségével vizsgáltuk. Annak érdekében, hogy minél átfogóbb képet kaphassunk a szerkezetben bekövetkező változásokról, vizsgálataink során a nukleázok cinkujj részletéhez specifikusan, illetve nem-specifikusan kötődő DNS-t egyaránt alkalmaztunk. Eredményeink azt mutatják, hogy a DNS-kötés hatására a másodlagos szerkezeti összetétel nem változik szignifikáns mértékben, ezért a továbbiakban a katalitikus és szabályozó egység térbeli távolságának megállapítására fluoreszcencia spektroszkópiás vizsgálatokat tervezünk.

[1] E. Németh, G.K. Schilli, G. Nagy, C. Hasenhindl, B. Gyurcsik, C. Oostenbrink, *J. Comp-Aid. Mol. Des.*, **2014**, 28, 841–850

Köszönetnyilvánítás: F.Z. egyhónapos dániai tanulmányútját a Campus Hungary Ösztöndíj támogatta.