

Bài báo nghiên cứu

CẢM ỨNG SỰ DIMER HÓA PROTEIN BỞI TRÌNH TỰ DNA CHỨA HAI CẤU TRÚC G-QUADRUPLEX

Đặng Thanh Dũng^{1*}, Phan Thị Phương Trang²

¹Trường Đại học Mở Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

*Tác giả liên hệ: Đặng Thanh Dũng – Email: dung.dthanh@ou.edu.vn

Ngày nhận bài: 09-02-2022; ngày nhận bài sửa: 25-3-2022; ngày duyệt đăng: 26-3-2022

TÓM TẮT

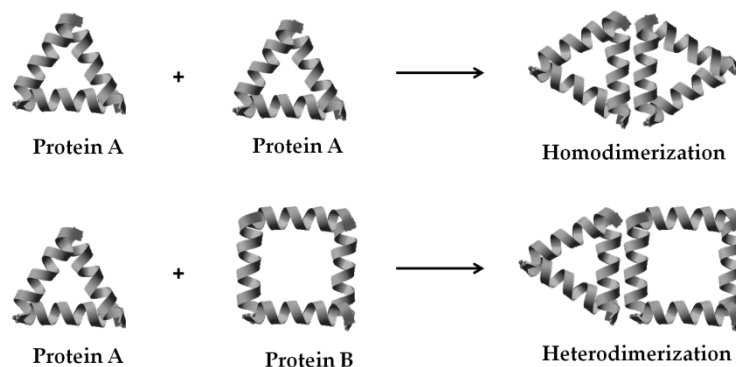
Sự dimer protein đóng vai trò quan trọng trong hầu hết các quá trình sinh học như phiên mã, sao chép, truyền tín hiệu, hoạt hóa enzyme... Do đó, kiểm soát sự dimer của protein sẽ giúp điều hòa các quá trình này trong tế bào. Trong nghiên cứu này, kiểm soát sự dimer hóa của protein được thực hiện bởi trình tự DNA chứa 2 cấu trúc G-quadruplex (2G4). Các protein chỉ thị CFP và YFP sẽ được dung hợp vào peptide RHAU tạo ra lần lượt RHAU-CFP và RHAU-YFP, sau đó sự dimer hóa protein sẽ được phân tích dựa vào sự trao đổi năng lượng giữa CFP và YFP khi 2 protein này gắn với nhau bằng kỹ thuật FRET. Tính hiệu FRET được ghi nhận trong hỗn hợp RHAUCFP/RHAUYFP dưới sự hiện diện của 2G4. Điều đó cho thấy được 2G4 có khả năng cảm ứng sự hình thành dimer của protein dung hợp với peptide RHAU trong ống nghiệm. Kết quả này làm tiền đề cho những nghiên cứu về kiểm soát hoạt tính của những protein dimer chức năng bởi cấu trúc 2G4 trong những ứng dụng sinh hóa.

Từ khóa: 2G4; CFP; Dimer; protein; YFP

1. Giới thiệu

Tương tác protein-protein là một quá trình sinh học quan trọng trong đó các protein tương tác với nhau tạo thành một tổ hợp chức năng, ở dạng đồng nhất hoặc dị phân tử, để (Hình 1). Trên thực tế, protein hiếm khi thể hiện chức năng và hoạt động ở dạng đơn phân trong môi trường sinh học. Sự tự sát nhập của các protein để tạo thành dimer hoặc các tập hợp oligomeric là một hiện tượng lí sinh phổ biến, xảy ra trong tế bào. Tất cả các con đường tế bào như hoạt hóa enzym (Citri & Yarden, 2006), truyền tín hiệu (Ahsan, 2016), và thậm chí cả con đường gây bệnh (Hynes & Lane, 2005) đều được thể hiện thông qua quá trình dimer hóa protein.

Cite this article as: Dang Thanh Dung, & Phan Thi Phuong Trang (2022). DNA consisting 2 G-quadruplex structure-induced dimerization of protein. *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science*, 19(3), 449-457.

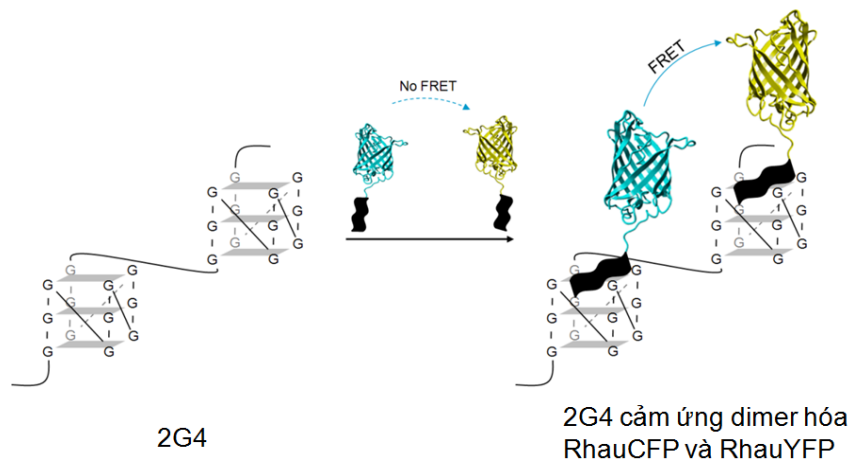


Hình 1. Sự tương tác giữa các protein để hình thành protein chức năng dạng dimer đồng nhất (homodimerization) và dimer dị phân tử (heterodimerization)

Quá trình điều hòa dimer hóa protein là một quá trình cần thiết để phát triển của các sinh vật dưới tác động kích thích của các yếu tố nội sinh hoặc ngoại sinh trong môi trường tự nhiên (Marianayagam, Sunde, & Matthews, 2004). Do đó, việc hiểu rõ các cơ chế phân tử của quá trình dimer hóa protein và chức năng của chúng là bước tiến mới của nghiên cứu và cung cấp nhiều mục nhập cho các ứng dụng y sinh. Tạo đột biến mang tính kỵ nước cho các amino acid bề mặt của protein có thể tạo sự dimer hóa protein thông qua các tương tác kỵ nước với nhau (Chao et al., 2005). Hoặc đồng hóa peptide có cấu trúc dây kéo (zipper) vào các protein mục tiêu tạo nên sự dimer hóa protein thông qua cấu trúc dây kéo (Mason & Arndt, 2004). Tuy nhiên, các phương pháp này bị giới hạn bởi mang tính 1 chiều có nghĩa là chỉ tạo sự dimer hóa mà không thể tách ngược ra đơn lẻ, do đó không thể kiểm soát được hoạt tính của các protein. Hiện nay, có rất nhiều phương pháp mới được phát triển cho việc kiểm soát hai chiều quá trình dimer hóa của protein như sử dụng phân tử nhỏ hóa học (chemical inducer) (Hardwick, Kuruvilla, Tong, Shamji, & Schreiber, 1999; Mangal, Zielich, Lambie, & Zanin, 2018; Pratt, Schwartz, & Muir, 2007; Schreiber, 2021; Schultz & Clardy, 1998), phương pháp phân tử vòng (host-guest) (Bai, Luo, & Liu, 2016; Dang, 2012; Dang, Nguyen, Merx, & Brunsveld, 2013; Khan & Lee, 2021), phương pháp ion kim loại (Kochanczyk et al., 2016; Song, Sontz, Ambroggio, & Tezcan, 2014), và phương pháp sử dụng nucleic acids (Truong, 2020). Mỗi phương pháp đều có những ưu và nhược điểm riêng cho việc điều hòa kiểm soát dimer hóa protein. Trong nghiên cứu này, DNA chứa hai trình tự hình thành cấu trúc G4 được sử dụng cho việc cảm ứng sự dimer protein. Đây là phương pháp mới cho việc cảm ứng sự dimer hóa protein chưa được công bố trước đây.

G-quadruplex (G4) là cấu trúc bậc 2 của DNA hoặc RNA được hình thành khi trình tự có chứa nhiều Guanine trong phân tử (Maizels & Gray, 2013). G-quadruplex có 2 cấu trúc: cấu trúc song song và không song song. Trong tế bào, sự hình thành cấu trúc G4 ảnh hưởng rất lớn đối với các quá trình hoạt động sinh học như sao chép, phiên mã, dịch mã và sự bảo tồn telomer (Maizels, 2015; Rhodes & Lipps, 2015). Sự tương tác giữa G4 và

protein được xem là nhân tố quan trọng để có thể kiểm soát các hoạt động của tế bào. Các protein trong tế bào như BLM, FANCI, PIF1 và RhuA đã được nghiên cứu về sự tương tác với cấu trúc G4 (Maizels & Gray, 2013). Đặc biệt, vùng peptide bám đặc hiệu vào cấu trúc G4 của RhuA peptide đã được nghiên cứu cơ chế phân tử bởi kỹ thuật NMR (Heddi, Cheong, Martadinata, & Phan, 2015). RhuA peptide bám đặc hiệu trên bề mặt cấu trúc G4 thông qua tương tác điện tích giữa các amino acid mang điện tích dương của RhuA peptide và nhóm phosphate mang điện tích âm của cấu trúc G4. Sự tương tác đặc hiệu vào cấu trúc G4 bởi RhuA peptide đã được ứng dụng trong các quá trình sinh hóa như phát triển đầu dò protein huỳnh quang có khả năng nhận biết cấu trúc G4 (Dang & Phan, 2016), phát triển các enzyme cắt DNA hay RNA có thể nhận biết cấu trúc G4 và cắt tại vị trí đặc hiệu (Dang, Nguyen, Truong, Nguyen, & Phan, 2021; Dang & Phan, 2019). Trong nghiên cứu này, sự dimer của protein được cảm ứng bởi trình tự DNA chứa 2 cấu trúc G4 thông qua tương tác đặc hiệu giữa RhuA và G4. Phân tử 2G4 cảm ứng sự dimer hóa của protein sẽ được phân tích bằng kỹ thuật trao đổi năng lượng (FRET) với cặp protein chỉ thị xanh (CFP) và vàng (YFP). Nghiên cứu tạo tiền đề cho việc ứng dụng phương pháp cảm ứng sự dimer hóa protein bởi 2G4 trong việc hoạt hóa các protein dimer chức năng trong các quá trình sinh học.



Hình 2. Mô hình DNA chứa 2 cấu trúc G4 cảm ứng sự dimer của protein CFP, YFP dung hợp với RhuA peptide

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

• Dòng hóa plasmid

Cặp protein chỉ thị cho FRET, RhuACFP và RhuAYFP, được tạo ra bằng cách kết hợp RhuA (53 aa) với CFP và YFP, tương ứng. DNA mã hóa cho RhuA được khuếch đại bằng PCR sử dụng gen RhuA làm khuôn mẫu và một cặp mồi ON1 / ON2 (ON1: 5'- gcg tgg atc cgt cca tgc atc ccg ggc acc tga aag-3'; ON2: 5'- gat tca tat ggc tgc cgc cgc cgc tct tcg ctt gaa cag aat tca gta ac-3'). Sản phẩm pcr này được dòng hóa vào vector chủ pETDuet1 đã qua xử lý (Merck Millipore, Đức) tại BamHI và NdeI, kết quả thu được plasmid p-RhuA.

DNA mã hóa cho CFP và YFP được khuếch đại bằng PCR sử dụng pHT582 (Nguyen, Dang, van Dongen, & Brunsveld, 2010) chứa gen CFP và pHT584 (Nguyen et al., 2010) chứa gen YFP làm khuôn mẫu và một cặp môi ON3 / ON4 (ON3: 5'-tta aag atc tag gcg gcg gca gca tgg tga gca agg gcg agg ag-3'; ON4: 5'-cca tct cga gtt act tgt aca gct cgt cca tgc cga gag tg-3'). Các sản phẩm PCR này được dòng hóa vào vector pRhu đã xử lý ở BglIII và XhoI, tạo nên plasmid mục tiêu pRhuCFP và pRhuYFP, tương ứng.

- **Sự biểu hiện và tinh chế protein:**

Các plasmid pRhuCFP (mã hóa RhuCFP) và pRhuYFP (mã hóa RhuYFP) được biến nạp vào *E. coli BL21* (DE3). Vi khuẩn được nuôi cấy trong môi trường Luria-Bertani chứa 100 mg/L ampicillin và các tế bào được nuôi cấy ở 37°C, lắc 220 vòng/phút, khi giá trị OD₆₀₀ đạt 0,8, IPTG (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) được thêm vào đến nồng độ cuối cùng là 0,3 mM. Các tế bào được ủ liên tục qua đêm ở 16°C, lắc 180 vòng/phút trước khi thu hoạch. Sinh khối được huyền phù vào thuốc thử chiết xuất protein bugBuster (EMD Millipore, Burlington, MA, USA) cộng với benzonase nuclease (để phân hủy DNA và RNA) và các mảnh vụn tế bào không hòa tan được loại bỏ bằng cách ly tâm ở 20.000 vòng / phút trong 40 phút ở 4°C. Phần hòa tan được cho vào cột His-tag (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA). Sau đó, cột được rửa với 20 thể tích cột gồm 20 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl và 10 mM đệm imidazole, pH 7. Các protein được li giải bằng 20 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl và 200 mM imidazole. Hàm lượng imidazole trong dung dịch protein sau đó được loại bỏ bằng cách sử dụng bộ lọc li tâm Amicon Ultra-15 (EMD Milipore). Các protein tinh khiết được thu nhận và phân tích bởi SDS-PAGE.

- **Cấu trúc G4**

DNA có trình tự chứa 2 cấu trúc G4 (2G4): 5' ttt ggg tgg gtg ggt ggg tta cgc agg ttg cac atc tta aca acc tgc act tgg gtg ggt ggg tgg gtt 3' được mua từ Công ty IDT tại Singapore. Trình tự DNA hình thành cấu trúc G4 dưới sự cảm ứng của muối K⁺ trong môi trường dung dịch đệm 20 mM kali photphat, pH 6,5.

- **Kỹ thuật FRET**

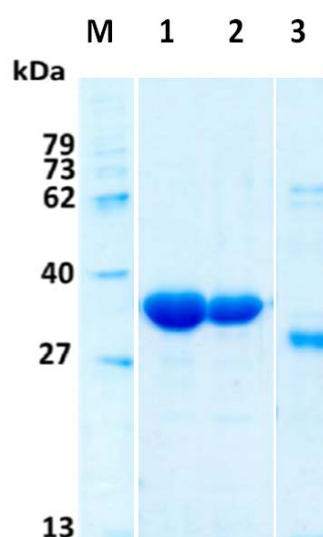
Kỹ thuật FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) đã được sử dụng như một công cụ hữu ích cho việc phát hiện quá trình dimer của protein. Sự xuất hiện của tín hiệu FRET phụ thuộc vào khoảng cách khoảng 1-10 nm giữa phân tử protein cho và phân tử protein nhận

Tất cả các mẫu dùng cho kỹ thuật FRET được đo trong dung dịch đệm chứa 20 mM kali photphat, pH 6,5 trong cuvet thạch anh có chiều dài đường dẫn 10 mm (Hellma). Các mẫu protein để đo được sử dụng ở nồng độ 1 μM. Tất cả các phép đo FRET được thực hiện bằng máy quang phổ huỳnh quang Cary Eclipse (Varian) và tất cả dữ liệu huỳnh quang được ghi lại ở 25 °C với bước sóng kích thích là 410 nm. Các thông số của phép đo được giữ không đổi trong tất cả các phép đo để cho phép so sánh dữ liệu.

3. Kết quả và thảo luận

• Dòng hóa biểu hiện tinh chế protein

Peptide Rhau ngắn 16 aa (aa 53-68) có thể nhận biết đặc hiệu G4 song song, tuy nhiên độ dài của các peptide RHAU ảnh hưởng đáng kể đến ái lực liên kết. Do đó, cặp protein huỳnh quang FRET RhauCFP và RhauYFP được tạo ra bằng cách kết hợp peptide 55-aa RHAU (aa 53-107) vào CFP và YFP, tương ứng. Trình tự DNA mã hóa RhauCFP và RhauYFP được xác nhận bằng giải trình tự DNA. Tất cả các protein được biểu hiện trong *E.coli BL21* (DE3) dưới sự cảm ứng của IPTG. Các protein có chứa đuôi His ở đầu N được tinh chế bằng cột sắc ký cột His. Protein tinh khiết được đánh giá bằng SDS-PAGE (Hình 3). Trọng lượng phân tử của protein RhauCFP và RhauYFP lần lượt là 36,21 kDa và 36,29 kDa, chúng di chuyển giữa đoạn 27 kDa và 40 kDa của thang. CFP đối chứng là 28,57 kDa, di chuyển trên vạch 27 kDa của thang.

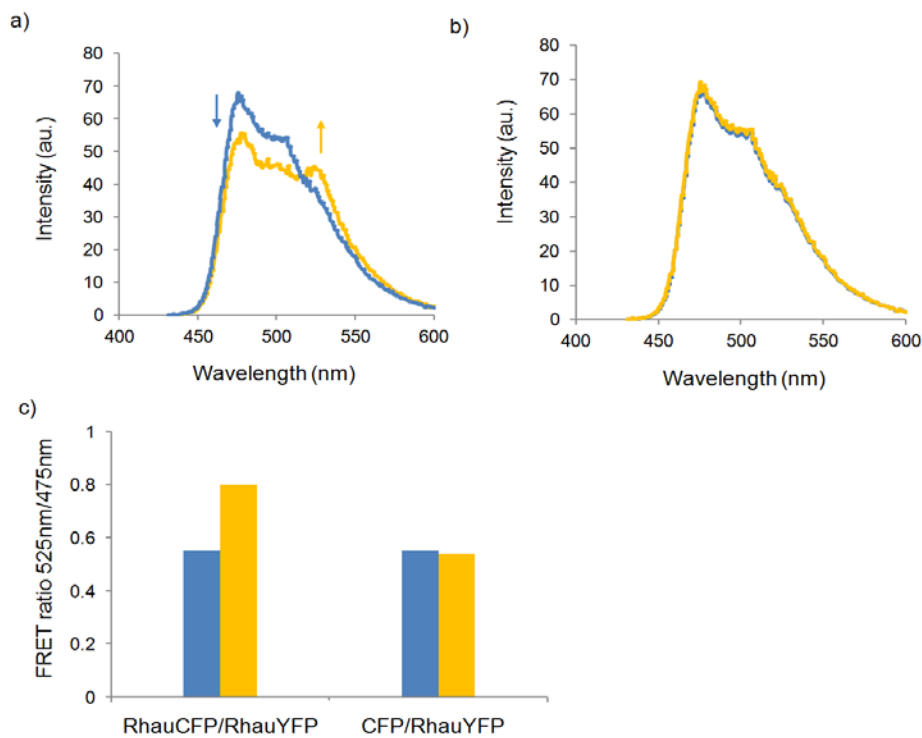


Hình 3. Phân tích độ tinh sạch của protein mục tiêu bằng phương pháp SDS-PAGE. Lane 1: RhauCFP, lane 2: RhauYFP, lane 3: CFP

• Phân tích cảm ứng sự hình thành dimer protein bởi DNA chứa 2 cấu trúc G4 bằng kĩ thuật FRET

Kĩ thuật FRET được sử dụng phổ biến cho việc phân tích sự tương tác giữa các protein khi các protein gần với nhau ở khoảng cách khoảng 1-10 nm. Dựa vào tính chất vật lí trong việc trao đổi năng lượng giữa các protein cho năng lượng và protein nhận nhận năng tạo nên tính hiệu FRET. Trong nghiên cứu này, cặp protein chỉ thị cho FRET được sử dụng là CFP và YFP được dung hợp với peptide RHAU. Trong hỗn hợp RhauCFP (4 μ M) và RhauYFP (4 μ M), tín hiệu FRET không được ghi nhận bởi vì 2 phân tử protein này ở xa nhau. Tuy nhiên, khi có sự hiện diện của trình tự DNA chứa 2 cấu trúc G4 (2G4) (4 μ M), tín hiệu FRET được xuất hiện trong hỗn hợp 2 protein (tỉ lệ ở bước sóng 525 nm/475 nm tăng từ 0,55 đến 0,81) (Hình 4ac). Tín hiệu FRET cho thấy được 2G4 đã cảm ứng sự dimer

hóa của 2 protein RhauCFP và RhauYFP, và mang 2 protein này tiến lại gần nhau do đó năng lượng từ protein CFP đã truyền sang protein YFP. Ngược lại, khi cho 2G4 vào hỗn hợp CFP và RhauYFP không thấy sự xuất hiện của tính hiệu FRET (tỉ lệ ở bước sóng 525nm/475nm không thay đổi từ 0.55 đến 0.54) (Hình 4bc). Kết quả cho thấy 2G4 không tạo được liên kết giữa CFP và RhauYFP nên đã không có sự trao đổi năng lượng giữa 2 protein này. Qua kết quả phân tích bằng kỹ thuật FRET chứng minh được 2G4 có khả năng bám đặc hiệu ít nhất là 2 phân tử Rhau cùng lúc. Hiện nay, cấu trúc G4 còn được xem là phân tử mục tiêu tiềm năng cho việc thiết kế các loại thuốc đặc hiệu cho việc điều hòa các quá trình sinh học trong trị liệu. Qua sự nhận diện và bám đặc hiệu của Rhau vào cấu trúc G4 làm tiền đề cho những ứng dụng điều hòa kiểm soát đối với những protein chức năng dung hợp với Rhau peptide.



Hình 4. Cấu trúc 2G4 cảm ứng sự dimer hóa protein được phân tích bởi FRET. a) Tín hiệu huỳnh quang thu được trong hỗn hợp RhauCFP (4 μ M) và RhauYFP (4 μ M) khi không (xanh) và có bổ sung chất cảm ứng 2G4 (4 μ M) (màu vàng). b) Tín hiệu huỳnh quang thu được trong hỗn hợp CFP (4 μ M) và RhauYFP (4 μ M) khi không (xanh) và có bổ sung chất cảm ứng 2G4 (4 μ M). c) Tỉ lệ FRET phân tích khi không (xanh) và có (vàng) bổ sung 2G4 vào hỗn hợp RhauCFP/RhauYFP và hỗn hợp đối chứng âm CFP/RhauYFP

4. Kết luận

Sự tương tác giữa các protein đóng vai trò rất quan trọng trong các hóa trình sinh hóa của sự phát triển các sinh vật. Do đó, điều hòa kiểm soát quá trình này có ý nghĩa khoa học và thực tiễn trong các liệu pháp điều trị. Đa phần protein hoạt động ở dimer hoặc oligomer

trong tế bào, do đó cảm ứng sự dimer hóa hay oligo hóa sẽ giúp tạo hoạt tính cho protein. Tín hiệu FRET cho thấy được cấu trúc 2G4 có thể nhận diện và bám đặc hiệu vào ít nhất 2 Rhu peptide, qua đó có thể cảm ứng dimer hóa của các protein dung hợp với peptide này. Đây cũng là phương pháp mới có thể được ứng dụng cho việc hoạt hoá các protein chức năng khác trong tế bào như enzyme, thụ thể màng... cho những quá trình sinh học.

❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ahsan, A. (2016). Mechanisms of Resistance to EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors and Therapeutic Approaches: An Update. *Adv Exp Med Biol*, 893, 137-153. doi:10.1007/978-3-319-24223-1_7
- Bai, Y., Luo, Q., & Liu, J. (2016). Protein self-assembly via supramolecular strategies. *Chem Soc Rev*, 45(10), 2756-2767. doi:10.1039/c6cs00004e
- Chao, Y., Shiozaki, E. N., Srinivasula, S. M., Rigotti, D. J., Fairman, R., & Shi, Y. (2005). Engineering a dimeric caspase-9: a re-evaluation of the induced proximity model for caspase activation. *PLoS Biol*, 3(6), e183. doi:10.1371/journal.pbio.0030183
- Citri, A., & Yarden, Y. (2006). EGF-ERBB signalling: towards the systems level. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 7(7), 505-516. doi:10.1038/nrm1962
- Dang D.T., S. J., and Brunsveld L. (2012). Cucurbit [8] uril-mediated protein homotetramerization. *Chemical Science*, 3(9), 2679-2684.
- Dang, D. T., Nguyen, H. D., Merckx, M., & Brunsveld, L. (2013). Supramolecular control of enzyme activity through cucurbit[8]uril-mediated dimerization. *Angew Chem Int Ed Engl*, 52(10), 2915-2919. doi:10.1002/anie.201208239
- Dang, D. T., Nguyen, L. T. A., Truong, T. T. T., Nguyen, H. D., & Phan, A. T. (2021). Construction of a G-quadruplex-specific DNA endonuclease. *Chem Commun (Camb)*, 57(37), 4568-4571. doi:10.1039/d0cc05890d
- Dang, D. T., & Phan, A. T. (2016). Development of Fluorescent Protein Probes Specific for Parallel DNA and RNA G-Quadruplexes. *Chembiochem*, 17(1), 42-45. doi:10.1002/cbic.201500503
- Dang, D. T., & Phan, A. T. (2019). Development of a ribonuclease containing a G4-specific binding motif for programmable RNA cleavage. *Sci Rep*, 9(1), 7432. doi:10.1038/s41598-019-42143-8
- Hardwick, J. S., Kuruvilla, F. G., Tong, J. K., Shamji, A. F., & Schreiber, S. L. (1999). Rapamycin-modulated transcription defines the subset of nutrient-sensitive signaling pathways directly controlled by the Tor proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96(26), 14866-14870. doi:10.1073/pnas.96.26.14866

- Heddi, B., Cheong, V. V., Martadinata, H., & Phan, A. T. (2015). Insights into G-quadruplex specific recognition by the DEAH-box helicase RHAU: Solution structure of a peptide-quadruplex complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *112*(31), 9608-9613. doi:10.1073/pnas.1422605112
- Hynes, N. E., & Lane, H. A. (2005). ERBB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors. *Nat Rev Cancer*, *5*(5), 341-354. doi:10.1038/nrc1609
- Khan, S. B., & Lee, S. L. (2021). Supramolecular Chemistry: Host-Guest Molecular Complexes. *Molecules*, *26*(13). doi:10.3390/molecules26133995
- Kochanczyk, T., Nowakowski, M., Wojewska, D., Kocyla, A., Ejchart, A., Kozminski, W., & Krezel, A. (2016). Metal-coupled folding as the driving force for the extreme stability of Rad50 zinc hook dimer assembly. *Sci Rep*, *6*, 36346. doi:10.1038/srep36346
- Maizels, N. (2015). G4-associated human diseases. *EMBO Rep*, *16*(8), 910-922. doi:10.15252/embr.201540607
- Maizels, N., & Gray, L. T. (2013). The G4 genome. *PLoS Genet*, *9*(4), e1003468. doi:10.1371/journal.pgen.1003468
- Mangal, S., Zielich, J., Lambie, E., & Zanin, E. (2018). Rapamycin-induced protein dimerization as a tool for C. elegans research. *MicroPubl Biol*, *2018*. doi:10.17912/W2BH3H
- Marianayagam, N. J., Sunde, M., & Matthews, J. M. (2004). The power of two: protein dimerization in biology. *Trends Biochem Sci*, *29*(11), 618-625. doi:10.1016/j.tibs.2004.09.006
- Mason, J. M., & Arndt, K. M. (2004). Coiled coil domains: stability, specificity, and biological implications. *Chembiochem*, *5*(2), 170-176. doi:10.1002/cbic.200300781
- Nguyen, H. D., Dang, D. T., van Dongen, J. L., & Brunsveld, L. (2010). Protein Dimerization Induced by Supramolecular Interactions with Cucurbit[8]uril. *Angew Chem Int Ed Engl*, *49*(5), 895-898. doi:10.1002/anie.200904413
- Pratt, M. R., Schwartz, E. C., & Muir, T. W. (2007). Small-molecule-mediated rescue of protein function by an inducible proteolytic shunt. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *104*(27), 11209-11214. doi:10.1073/pnas.0700816104
- Rhodes, D., & Lipps, H. J. (2015). G-quadruplexes and their regulatory roles in biology. *Nucleic Acids Res.*, *43*(18), 8627-8637.
- Schreiber, S. L. (2021). The Rise of Molecular Glues. *Cell*, *184*(1), 3-9. doi:10.1016/j.cell.2020.12.020
- Schultz, L. W., & Clardy, J. (1998). Chemical inducers of dimerization: the atomic structure of FKBP12-FK1012A-FKBP12. *Bioorg Med Chem Lett*, *8*(1), 1-6. doi:10.1016/s0960-894x(97)10195-0
- Song, W. J., Sontz, P. A., Ambroggio, X. I., & Tezcan, F. A. (2014). Metals in protein-protein interfaces. *Annu Rev Biophys*, *43*, 409-431. doi:10.1146/annurev-biophys-051013-023038
- Truong, T. T. T., Cao, C., & Dang, D. T. (2020). Parallel G-quadruplex-mediated protein dimerization and activation. *RSC Advances*(10), 29957-29960. doi:doi: 10.1039/d0ra06173e

**DNA CONSISTING 2 G-QUADRUPLEX STRUCTURE-INDUCED DIMERIZATION
OF PROTEIN*****Dang Thanh Dung^{1*}, Phan Thi Phuong Trang²****¹Ho Chi Minh City Open University, Vietnam**²University of Science, Vietnam National University in Ho Chi Minh City, Vietnam***Corresponding author: Dang Thanh Dung – Email: dung.dthanh@ou.edu.vn**Received: February 09, 2022; Revised: March 25, 2022; Accepted: March 26, 2022***ABSTRACT**

Protein dimerization plays a key role in most biological processes such as transcription, signal transduction, or enzyme activation. Therefore, modulating and controlling the protein dimerization will help regulate this process in cells. In this study, control over protein dimerization was induced by DNA sequencing containing two G-quadruplex (2G4) structures. The fluorescent proteins CFP and YFP were fused with Rhau peptide, resulting in RhauCFP and RhauYFP, respectively. Protein dimerization was analyzed based on the energy transfer between CFP and YFP when these two proteins are close to each other via FRET signaling. The FRET signal was observed in the RhauCFP/RhauYFP mixture under the presence of 2G4. This shows that 2G4 is capable of inducing dimer formation of protein fusing with Rhau in vitro. This result opens up an approach for controlling the activity of functional protein dimerization by the 2G4 in biochemical applications.

Keywords: 2G; CFP; Dimer; protein; YFP