

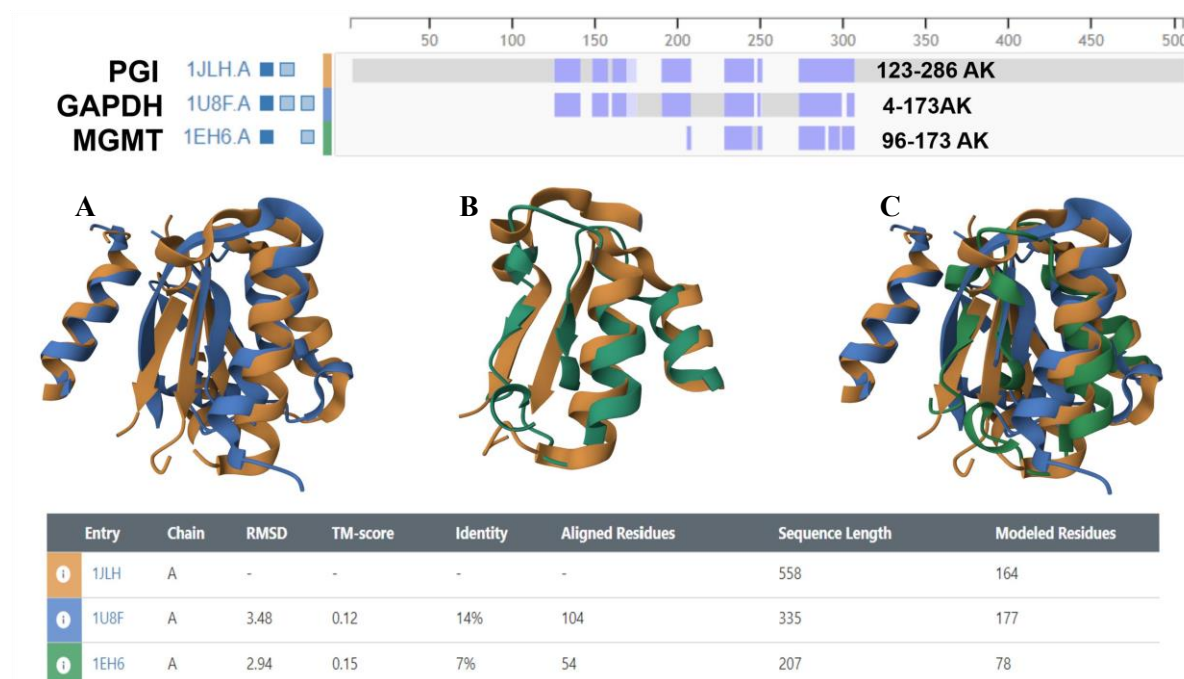
Glu224 на **FrlB**, докато **Pgi His386** съвпада с **FrlB His240**. Освен това SIS домените на двата ензима, всеки от които съдържа Rossmann fold структура от 5 β -листа, заобиколни от α -спирали, почти напълно съвпадат, въпреки цялостната структурна разлика между двата ензима. Голямото структурно сходство между каталитичните центрове на Pgi и FrlB ензимите може да се обясни с това, че те разпознават един и същи субстрат (Амадори продукта **-NH-F6P**), което пък от своя страна предполага сходни механизми на дегликиране на ДНК-**NH-F6P** (от Pgi) и Lys-**NH-F6P** (от FrlB).

13. СРАВНЯВАНЕ НА *E. coli* PGI И hPGI С ДНК СВЪРЗВАЩИ И РЕПАРАТИВНИ БЕЛТЪЦИ

Потърсихме подобие между *E. coli* Pgi и известни ДНК свързващи и репаративни ензими в базата данни REPAIRtoire на лабораторията по биоинформатика и белтъчно инженерство (LBPE) към международния институт по молекулярна и клетъчна биология (ИМСВ) (Варшава, Полша) (Milanowska *et al.*, 2010). Като използвахме HHsearch модела (Hidden Markov Model), включващ вторичните белтъчни структури, в тази база данни открихме няколко белтъка, показващи над 25% хомология с *E. coli* Pgi.

Почти всички белтъци, хомоложни на фосфоглюкозоизомеразата, се оказаха ДНК гликозилази, които поправят модифицирани бази. В проведения от нас ChIP-LC/MS експеримент с ракови клетки, един от белтъците, които имунопреципитираха с анти-hPGI антитялото, беше гликолитичният ензим GAPDH. Литературни данни показват, че най-вероятно С-краят на GAPDH образува комплекс с PGI и друг гликолитичен ензим – пируват киназа M2 (PKM 2) (Das *et al.*, 2016) - всичките с ядрена локализация. Подобно на PGI, GAPDH изпълнява множество функции в клетката, сред които ролята на урацилгликозилаза от BER системата за поправка на ДНК. Взаимодействието на GAPDH с нуклеинови киселини е опосредствано от NAD(P)/ДНК свързващ домен. В този случай NAD(P) действа като конкурентен инхибитор на GAPDH при свързването ѝ с ДНК (Meyer-Siegler *et al.*, 1991). Сравняването на пространствените PDB структури на човешките PGI (1JLH, синьо) и GAPDH (P1U8F, кафяво) (**Фиг. 15А**) с алгоритъма jFATCAT показва значително пространствено припокриване на двата ензима в областта на NAD(P)/ДНК свързващия домен от hGAPDH (4-173AK) и SIS1 субстрат свързващия домен от hPGI (121-283AK).

Интересно за нас беше, че в базата данни REPAIRtoire на LBPE (ПМСВ) анализът на изоформа 3 на hPGI с най-дългата аминокиселинна последователност от 597 АК и силен NLS, освен с част от гореописаните ДНК-свързващи белтъци, показва висока степен на хомология (58% (срещу Pfam база данни)) с *ogt*-кодираната метилгуанин-метилтрансфераза на *E. coli* (MGMT, Uniprot P0AFH0) – същински репаративен ензим, който **директно** поправя O⁶-метилгуанинови лезии в ДНК като прехвърля метилната група от O⁶ позицията в гуанина върху собствен цистеинов остатък и по този начин възстановява гуаниновата база (Takano *et al.*, 1991). Сравняването на 3D структурите на SIS1 домена на човешката hPGI (123-286АК) и ДНК свързващия домен на MGMT (96-173АК) показва по-ниска идентичност (7%), но добро пространствено припокриване (RMSD, 2.94 Å) в тези участъци (**Фиг. 15B**). На **Фиг. 15C** са подравнени едновременно и трите структури. Представените биоинформатични анализи показват, че пространствената структура на hPGI SIS1 домена е сходна с тази на ДНК-свързващи участъци в репаративни ензими, което подсказва, че най-вероятно SIS1 домена отговаря за свързването на изомеразата с ДНК в качеството ѝ на ДНК дегликаза.

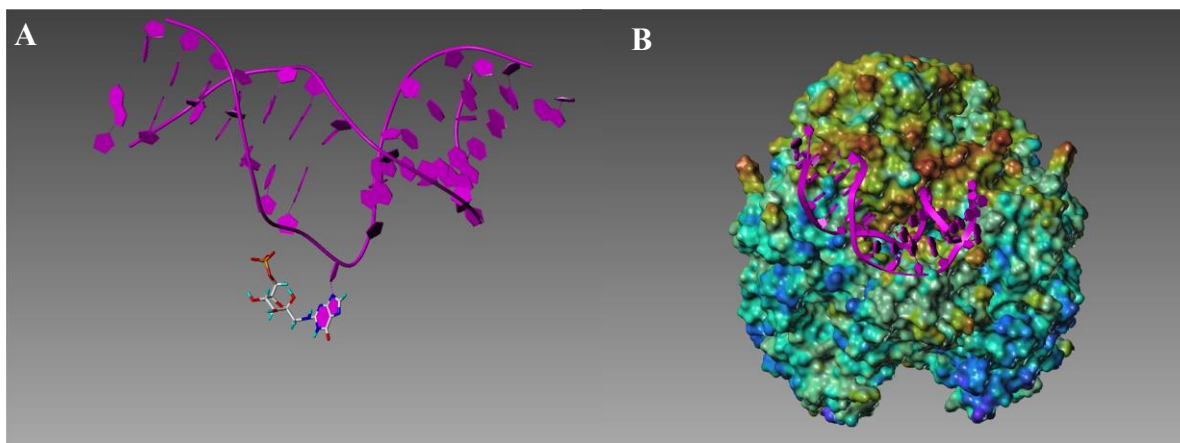


Фиг. 15. СТРУКТУРНО ПОДРАВНЯВАНЕ С JFATCAT

(A) SIS1 домена на hPGI (1JLH, кафяво) с ДНК-свързващия домен на hGAPDH (1U8F, синьо), (B) SIS1 домена на hPGI (1JLH, кафяво) с ДНК-свързващия домен на hMGMT(1EH6, зелено) и (C) на трите структури едновременно. Над пространствените структури в лилаво са показани аминокиселинните участъци, в които трите ензима са хомоложни.

14. МОЛЕКУЛЕН ДОКИНГ *IN SILICO*

В търсенето на аргументи в подкрепа на предложението от нас механизъм за ДНК дегликиращо действие на PGI проведохме молекулен докинг *in silico*. Най-напред анализирахме субстрата ДНК-NH-F6P за физическа възможност да се вмести в активния център на ензима, за което използвахме програмата FlexiDock на пакета за молекулно моделиране Sybyl. За целите на този анализ ни беше необходима кристалографска структура на PGI в комплекс с F6P като естествен субстрат на ензима. Поради липса на подобни данни за *E. coli* Pgi и hPGI използвахме заешка rPGI (1HOX PDB) (Lee *et al.*, 2001), което е допустимо поради високата консервативност на ензима, демонстрирана в нашите изследвания. Тъй като гуаниновата (G) база е най-честата мишена за гликиране в ДНК, проведохме докинг с 9-метилгуанин (9mG), модифициран с F6P, присъединен към екзоцикличната му NH₂-група (9mG-NH-F6P). Проведохме още контролни докинг експерименти (не са представени) с F6P (отворена и циклична форма), G6P (отворена и циклична форма), както и с 9mG-рибонуклеозидмонофосфат.



Фиг. 16. Двойноверижна ДНК (20-мер) с „изтръгнат“ гуанинов остатък, (А) модифициран с F6P и

(В) молекулна повърхност на rPGI хомодимер, свързал ДНК с „изтръгнатия“ -G-NH-F6P остатък. В панел В в кафяво и синьо са обозначени съответно областите с положителен и отрицателен електростатичен потенциал върху rPGI, където интензитетът на оцветяването корелира с големината на потенциала.

Структурата на двойната ДНК спирала се поддържа от водородни връзки, в които участват екзоцикличните NH₂-групи на азотните бази А, G и С, които същевременно са и мишени за гликиране. Тези връзки понякога се разрушават естествено в резултат от „дишането“ на двойната спирала (спонтанно и локално временно разрушаване на

водородните връзки), както и в резултат от различни модификации на базите. В резултат от това разрушаване на водородните връзки базата се изтръгва от вътрешността на двойната спирала (base-flipping), което се използва от редица ДНК-репаративни ензими, в т. ч. и от ДНК-гликозилазите, за разпознаване на модифицираните бази и тяхната поправка. Както показаха нашите биоинформатични изследвания, ДНК-гликозилазите са сред ензимите, показали най-голямо структурно подобие с бактериалната и човешка фосфоглюкозоизомеразата. Логично е да предположим, че образуването на Амадори продукта -NH-F6P в гликираната ДНК също води до локално разрушаване на водородни връзки в двойната спирала в резултат от „внедряването“ на F6P-остатъка между гликираната база и нейния комплементарен партньор. Това от своя страна би довело до base-flipping на модифицираната база от вътрешността на двойната спирала и до деформация на нейната структура. Тези наши разсъждения станаха причина да моделираме структурата на двойноверижан ДНК олигонуклеотид (20-мер) със случайна нуклеотидна последователност и единичен „изтръгнат“ от двойната спирала G-остатък, модифициран с F6P (Фиг. 16А).

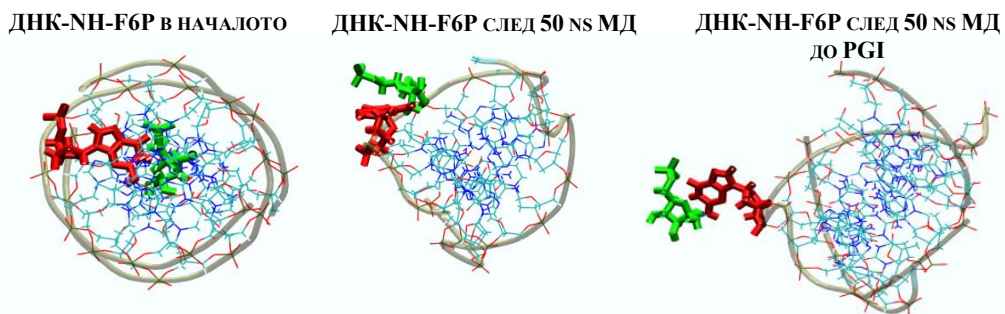
Така получената структура на гликирания ДНК олигонуклеотид беше използвана като лиганд за rPGI в следващ докинг експеримент, резултатът от който е показан на **Фиг. 16В**. Вижда се, че олигонуклеотидът с „изтръгнатата“ модифицирана база се свързва с повърхността на rPGI в област, която е с висок положителен електростатичен потенциал, което е очаквано предвид отрицателния заряд на ДНК. Областта на свързване на rPGI с ДНК е на границата между двете субединици на ензима, където е добре известно, че се формира неговият активен център.

15. МОЛЕКУЛНА ДИНАМИКА

При естествените условия в клетката фосфоглюкозоизомеразата, която се транспортира от цитоплазмата в ядрото, трябва да се доближи до ДНК и самостоятелно или в комплекс с други белтъци да се свърже с нея и да осъществи своята репаративна функция. При това разполагането на F6P-остатъкът от ДНК-NH-F6P в каталитичния център на ензима трябва да е идентично или близко до това на свободния F6P, за да може да протече изомеризацията на кетоамина ДНК-NH-F6P до алдимино ДНК-N=G6P, съгласно предложения от нас модел за дегикиращия механизъм на rPGI. Представените в предходната

точка резултати от докинг експериментите показаха, че ДНК-NH-F6P може да се свърже здраво с rPGI в областта на положително заредена бразда в ензима, обхващаща входа на каталитичната кухина, при което ДНК спиралата частично се разплита в А-Т участъци. Освен това е принципно възможно F6P-остатъкът да се акомодира в активния център на ензима и позицията му да се стабилизира чрез образуването на водородни връзки. За изследване на всички тези процеси в динамика проведохме молекулно моделиране и молекулно-динамични (МД) симулации, като трябва да отбележим, че до момента в литературата липсват молекулни структури на комплекси между фосфоглюкозоизомерата и ДНК (нативна или гликирана).

Най-напред симулирахме процеса на изтръгване на гликираната база от ДНК, който процес в реално време в клетката би трябвало да протича в момента на свързване на гликиращата захар с базата. На **Фиг. 17** е представена Нютонова МД-симулация, проведена с двойноверижен 25-мер ДНК олигонуклеотид с централно разположен близо до малката бразда гликиран гуанинов остатък.



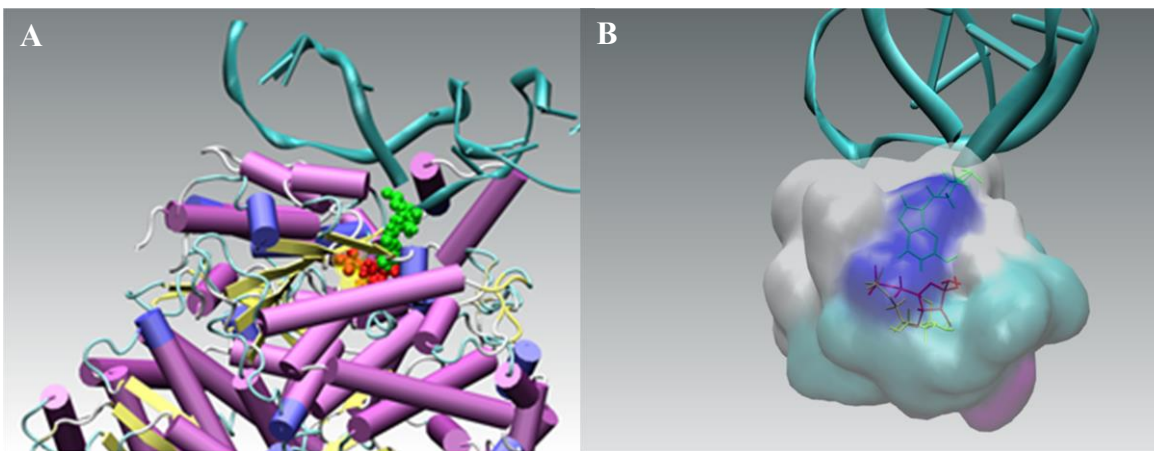
Фиг. 17. МД-симулация на изтръгване на модифициран с F6P гуанинов остатък извън 25-мерна ДНК в рамките на 50 ns; модифициран G-остатък (червено); F6P -остатък (зелено); ДНК (синьо)

От фигурата се вижда, че в рамките на 50 ns гликираната база се изтръгва от вътрешността на двойната спирала. В присъствие на rPGI, процесът е по-силно изразен, което води до отдалечаване на модифицираната база и респ. на F6P-остатъка от скелета на ДНК. В резултат на това се наблюдава значително деформиране на двойната спирала, очертана със светло кафява линия на **Фиг. 17**. Такива ДНК конформации са описани за кристални ДНК комплекси с BER-репаративни ензими (Maiti *et al.*, 2011; Adhikary *et al.*, 2013).

В следващата стъпка от нашите МД-анализи симулирахме молекулните събития, които настъпват след приближаването на изтръгнатата модифицирана база до ензимната

повърхност. За изследване на взаимодействието между rPGI и гликираната ДНК-NH-F6P проведохме още насочена молекулна динамика (метадинамика) в начални условия, при които модифицираната 25-мерна ДНК(G)-NH-F6P е обърната към кухината за свързване на лиганда пред положително заредената бразда в rPGI на разстояние $> 20 \text{ \AA}$. Симулацията беше проведена за 600 ns със заснемания на всеки 50 ns (линк към симулацията: https://drive.google.com/file/d/1a_10xdQY_NOXnhhofDmIpCAyRZ-cuSrL/view?usp=sharing).

На **Фиг. 18А** е представен комплекса между гликираната ДНК и ензима в края на симулацията (~600 ns). На фигурата се вижда как две от α -спиралите на ензима се внедряват в малката бразда на ДНК. Наблюдава се слаба деформация на пространствената структура на ензима, докато ДНК спиралата се разплита и деформира значително. На **Фиг. 18В** е показано разполагането в каталитичния център на ензима на естествения му субстрат F6P и на гликирания гуанинов остатък (-G-NH-F6P), изтръгнат от двойната спирала, в края на MD-симулацията. Наблюдава се сравнително добро припокриване на F6P в свободна форма с F6P-остатъка, свързан с G-базата (RMSD $\sim 5.5 \text{ \AA}$).



Фиг. 18. Краен ДНК-белтъчен комплекс след GB-МД симулацията:

(А) Разполагане на ДНК(G)-NH-F6P в активния център на rPGI – α -спирали (виолетово), β -листове (жълто), ДНК (циан), G-база (зелено), F6P-остатък (червено);

(В) Близък фокус на комплекс rPGI-ДНК(G)-NH-F6P в края на симулацията, където повърхността на кухината за свързване на лигандите е оцветена съгласно електростатичния потенциал, ДНК (циан), G-база (зелено), F6P-остатък (червено), F6P (жълто)

Определянето на окончателните (най-правдоподобни) ориентации както на G-F6P лиганда спрямо каталитичния център на ензима, така и на модифицирана (или не) ДНК спрямо повърхността на rPGI са в процес на продължаващи симулации. Очакваме

результатите от тези структурни изследвания да допринесат за изясняване както на каталитичната реакция на дегликиране на ДНК, така и на вида взаимодействие между ДНК и PGI (специфично или не).

16. ДНК ДЕГЛИКИРАЩ МЕХАНИЗЪМ НА ФОСФОГЛЮКОЗОИЗОМЕРАЗАТА

Получените от нас резултати в този дисертационен труд задълбочават представата ни за мултифункционалността на фосфоглюкозоизомеразата, добавяйки към известните активности на ензима още една - на ДНК-дегликаза (амадориаза). Спецификите на тази функция и нейните кинетичните параметри се открояват най-добре при сравняването им с тези на ензима като изомераза. За по-голяма нагледност тези параметри на *E. coli* Pgi са сравнени в следващата Таблица 3.

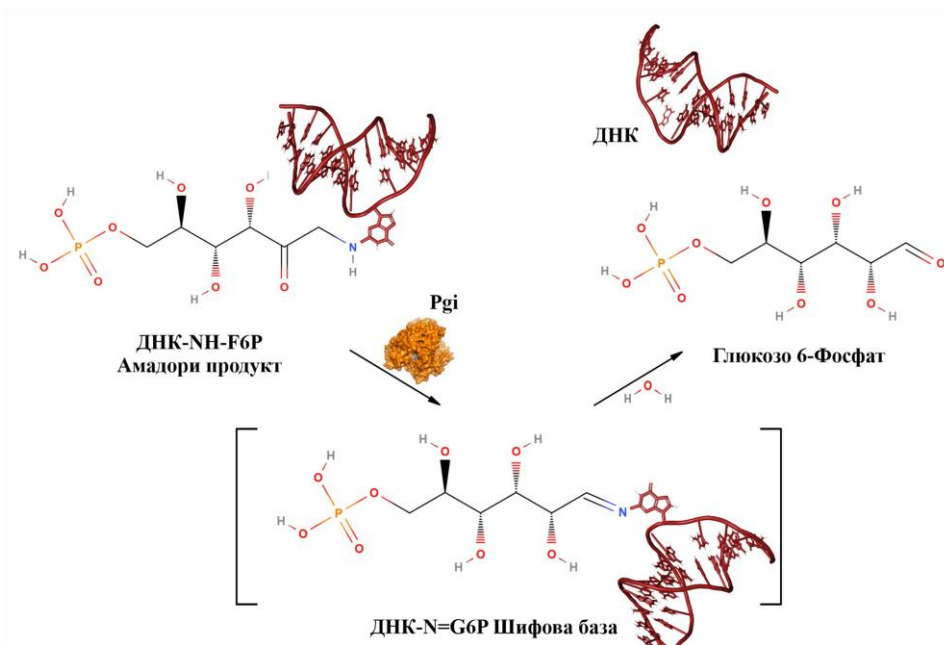
ТАБЛИЦА 3. КИНЕТИЧНИ ПАРАМЕТРИ НА *E. COLI* PGI СЪС СУБСТРАТИ F6P И ДНК-НН-F6P

КОНСТАНТА	СУБСТРАТ		МЕРНА ЕДИНИЦА
	F6P	ДНК-НН-F6P	
K_M'	0.1	0.2	mM
K_{CAT}'	242.0	52.5	s ⁻¹
K_{CAT}/K_M'	2.0×10 ⁶	0.3×10 ⁶	M ⁻¹ s ⁻¹

Константата за каталитичната ефективност K_{cat}/K_m отразява едновременно скоростта на превръщане на субстрата в продукт(и) (K_{cat}) и афинитета на ензима към субстрата (K_m) като по този начин позволява да се сравнят двете ензимни активности на *E. coli* Pgi – като изомераза и дегликаза. При това сравняване се вижда, че в качеството си на изомераза ензимът е 6.7 (~7) пъти по-ефективен, отколкото като ДНК-дегликаза, което се дължи основно на около пет пъти по-високата му каталитична константа. Реакцията на дегликиране на ДНК-НН-F6P е от първи порядък, от което следва, че по-високата K_m на Pgi със субстрат ДНК-НН-F6P свидетелства за неговата по-ниска константа на дисоциация (k_d) и респ. за по-здраво свързване с ензима, което би могло да обясни и по-високата му каталитична константа. Резултатите с PGI инхибитора еритрозо-4-фосфат в 1 mM концентрация, показаха почти пълно потискане на дегликирането на 50 μM ДНК-НН-F6P, което подсказва, че изомеразната и дегликазна активности на ензима са тясно свързани. На тази основа изградихме и своя модел за механизма на ДНК-НН-F6P дегликиращо действие на фосфоглюкозоизомеразата (Фиг. 19). Реакцията на изомеризация на G6P до F6P под

действието на ензима е обратима с равновесна константа за *E. coli* Pgi k_{eq} , 0.3 и за hPGI k_{eq} , 0.41. Тези стойности на k_{eq} показват, че в изолирани условия (*in vitro*) реакцията протича с предпочитание в обратната посока на тази в гликолитичната верига, т. е. изомеризация на F6P до G6P. Ето защо ние предполагаме, че като ДНК-NH-F6P дегликаза ензимът катализира протичането на ранния етап от реакцията на гликиране в обратна посока – т. е. превръщането на Амадори продуктите (ДНК-NH-F6P) в Шифови бази (ДНК=N-F6P) и хидролизата на последните до G6P и ДНК-NH₂, освободена от захарната модификация.

Дегликиращата активност на фосфоглюкозоизомеразата, която представяме тук, е много сходна с тази на бактериалните (*E. coli* и *S. enterica*) FrlB дегликази (Wiame *et al.*,



Фиг. 19. ДЕГЛИКИРАЩ МЕХАНИЗЪМ НА ФОСФОГЛЮКОЗОИЗОМЕРАЗАТА

2002; Kovvali *et al.*, 2023), които катализират отстраняването на същия Амадори продукт (-NH-F6P) от N^ε-аминогрупата на лизина. Нашите биоинформатични анализи демонстрираха наличието на обширни консервативни области в първичните структури на трите ензима (*E. coli* Pgi, *E. coli* FrlB и *S. enterica* FrlB) и сходство в тяхната доменна организация, което е в подкрепа на предложението от нас модел за дегликиращия механизъм на фосфоглюкозоизомеразата.

17. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тази дисертация показва, че Майяровата реакция, открита преди повече от век, продължава да бъде актуална и днес, при това в светлината на такива фундаментални биологични процеси като увреждане и поправка на ДНК. Изследванията на ефектите от Майяровата реакция върху ДНК в т. ч. на механизмите за поправка на гликирана ДНК значително изостават от тези върху белтъчното гликиране и неговите физиологични последици. Данните за механизмите на поправка на ДНК, модифицирана с продукти на гликиране, са оскъдни и ограничени основно до поправката на ДНК, съдържаща крайни продукти на напредналото гликиране (AGEs). Това изследване е първото, което докладва механизъм за поправка на ранни (Амадори) продукти в ДНК, които са предшественици за формирането на AGEs. Изследванията ни започнаха с наблюдението, че тотални лизати от чревната бактерия *E. coli* са в състояние да катализират отстраняването на конкретен Амадори продукт (фруктозо-6-фосфатен остатък) от ДНК.

Цел на дисертацията беше да се идентифицира носителят на наблюдаваната ДНК-амадориозна активност в тази комплексна смес от бактериални белтъци. Бяхме не малко изненадани, когато първоначалните изследвания ни насочиха към ензима фосфоглюкозоизомерата - добре известен и охарактеризиран ензим с роля в такъв фундаментален биологичен процес като гликолизата. Кратък преглед на литературата обаче ни обнадежди, тъй като стана ясно, че фосфоглюкозоизомерата е мултифункционален ензим, който изпълнява редица други, при това не само ензимни, но и неензимни функции.

Представените в тази дисертация изследвания добавят още една към известните досега функции на ензима фосфоглюкозоизомерата – функцията му на ДНК-дегликаза и по-конкретно на ДНК-амадориаза или на ДНК репаративен ензим от системата за свършена (error-free) поправка на ДНК. Тази функция не е различна, а тясно обвързана с автентичната изомеразна активност на ензима, която е консервативна и се проявява по сходен начин в различните организми. Това ни дава основание да смятаме, че фосфоглюкозоизомерата изпълнява функцията на ДНК-амадориаза във всичките три домена на живота - археи, бактерии и еукариоти. Освен това, изследването привежда поредния пример за икономична и целесъобразна организация на процесите в живата клетка, където чрез един ензимен акт, осъществяван от мултифункционален белтък, едновременно се поправя ДНК и се възстановява енергиен ресурс (G6P) в клетката.

18. ИЗВОДИ

1. Гликолитичният ензим фосфоглюкозоизомераза на *E. coli* (Pgi) и човек (hPGI) проявява ДНК-НН-Ф6Р дегликираща активност.
2. Каталитичната ефективност на *E. coli* Pgi като дегликаза е около седем пъти по-ниска от ефективността ѝ на изомераза, което се дължи основно на по-ниската каталитична константа на ензима.
3. Щам на *E. coli* с делетиран *pgi* ген мутира с по-висока честота към рифампицинова устойчивост, отколкото щам с функционален *pgi* ген.
4. Изоформи 1 и 3 на hPGI притежават сигнал за ядрена локализация.
5. Каталитичните центрове на *E. coli* Pgi и FrlB дегликазата на *S. enterica* са пространствено идентични.
6. Субстрат-свързващият домен на hPGI е структурно подобен с ДНК-свързващите домени на репаративните ензими hMGMT и hGAPDH.
7. Ф6Р-остатъкът на моделна гликирана ДНК се акомодира в каталитичния център на заешка PGI като след 600 ns симулация припокрива позицията на свободния Ф6Р с RMSD 5.5 Å.

19. ПРИНОСИ

Оригинални приноси

1. Открита е неизвестна до сега активност на гликолитичния ензим фосфоглюкозоизомераза.
2. Описана е първата ДНК-дегликаза с аматориазна активност и изомеризиращ механизъм на действие.
3. Показано е наличието на сигнал за ядрена локализация в две от изоформите на човешката фосфоглюкозоизомераза.
4. Направена е първата молекулно-динамична симулация на взаимодействието между гликолитичния ензим фосфоглюкозоизомераза и гликирана ДНК.

Принос с потвърдителен характер

1. Потвърдена е ядрената локализация на гликолитичния ензим фосфоглюкозоизомераза в човешки клетки.

20. НАУЧНИ ПУБЛИКАЦИИ

2. Boteva E, Doychev K, Kirilov K, Handzhiyski Y, Tsekovska R, Gatev E, Mironova R. Deglycation activity of the Escherichia coli glycolytic enzyme phosphoglucose isomerase. International Journal of Biological Macromolecules. 2024 Feb 1;257:128541. **Q1, IF 8.2**
3. E Boteva, K Doychev, R Tsekovska, Y Handzhiyski, I Ivanov, R Mironova. Protein amadoriase activity of the Escherichia coli K-12 glycolytic enzyme phosphoglucose isomerase C Rend Bulg Acad Sci. (2023), in press. IF: 0.343 **Q3, IF 0.3**
4. Doychev K, Georgieva V, Boteva E, Mironova R. Modification of DNA with glucose 6-phosphate to examine the glycolytic enzyme phosphoglucose isomerase for DNA-amadoriase activity. C Rend Bulg Acad Sci. 2021 Jan 1;74(6):843-51. IF: 0.378 **Q3, IF 0.326**
5. Boteva E, Mironova R. Maillard reaction and aging: can bacteria shed light on the link?. Biotechnology & Biotechnological Equipment. 2019 Jan 1;33(1):481-97. **Q3, IF 1.186**
6. Boteva E, Handzhiyski Y, Kotseva M, Datsenko K, Wanner B, Pischetsrieder M, Mironova R. Phosphoglucose Isomerase Deficiency in Escherichia coli K-12 Is Associated with Increased Spontaneous Mutation Rate. Adv Microbiol. 2018 May;8(5):390-405.
7. Tsekovska R, Handzhiyski Y, Boteva E, Kirilov K, Niwa, T, Ivanov I, Mironova R. Advanced glycation end products in Escherichia coli: A sign of aging. Chapter 5 in: Advances in Medicine and Biology, Nova Science Publishers, Inc. NY, USA (2017-January), Volume 118, pp. 51-81, ISBN: 978-1-53611-010-4. (Глава от книга)

21. НАУЧНИ ФОРУМИ

1. Е. Ботева, М. Пишетсридер, Р. Миронова. Създаване на ПНК:ДНК модел за изследване поправката на ДНК увредена от редуциращи захари (Доклад). Втори докторантски симпозиум „Молекулярната биология – нови хоризонти“, 6-7 април, 2017 г., София, стр. 17
2. Boteva E, Tileva M, Pischetsrieder M and Mironova R. PNA/DNA model to explore the glycolytic enzyme glucose 6-phosphate isomerase for DNA repair activity. (Poster) World BioDiscovery Congress 2017, 17-19 July 2017, Sofia, Bulgaria.
3. Boteva E, Tileva M, Krachmarova E, Pischetsrieder M and Mironova R. Repair of glucose 6-phosphate damaged DNA in Escherichia coli K-12. (Poster). NuGOweek 2017, 28-31 August 2017, Varna, Bulgaria.
4. Boteva, E., Doychev, K., Petkova, N., Mironova R. Protein amadoriase activity of the glycolytic enzyme phosphoglucose isomerase. Poster. Third Seminar on Genetics with International Participation, 2-4 October, 2019, Sofia, Bulgaria.
5. Boteva, E., Tileva, M., Krachmarova, E., Mironova R. Nuclear localization of the glycolytic enzyme phosphoglucose isomerase. Poster. The 43rd FEBS Congress, 7-12 July 2018, Prague, Czech Republic.
6. Boteva, E., Doychev, K., Georgieva, V., Handzhiyski, Y., Gatev, E., Pischetsrieder, M., Mironova, R. DNA-fructosamine-6-phosphate amadoriase activity of the glycolytic enzyme phosphoglucose

isomerase. Oral presentation. The 13th International Symposium on the Maillard Reaction, 10-13 September 2018, Montreal, Canada.

7. Boteva, E., Tileva, M., Kratchmarova, E., Mironova R. Nuclear localization and function of the glycolytic enzyme phosphoglucose isomerase. Poster. The 13th International Symposium on the Maillard Reaction, 10-13 September 2018, Montreal, Canada.
8. Georgieva, V., Doychev, K., Boteva, E., Ganchev T., Mironova R. DNA amadoriase activity of the glycolytic enzyme phosphoglucose isomerase. Poster. Second Young Scientists Seminar on Genetics with International Participation, 3-5 October, 2018, Sofia, Bulgaria. Постерът е отличен с първа награда и ваучер за закупуване на продукти за научни изследвания.
9. Georgieva, V., Doychev, K., Boteva, E., Ganchev T., Mironova R. DNA amadoriase activity of the glycolytic enzyme phosphoglucose isomerase. Poster. International Biomedical Congress, 16-18 November, 2018, Sofia Tech Park, Bulgaria. Постерът е отличен с трета награда.
10. Georgieva, V., Doychev, K., Boteva, E., Mironova R. DNA repair activity of the glycolytic enzyme phosphoglucose isomerase. Oral presentation. Kliment's Days, 8-9 November, 2018, Sofia, Bulgaria.

22. ЛИТЕРАТУРА

- Ханджийски Й, Кръстева М, Христова И, Иванов И, Миронова Р. Взаимодействие на ДНК с редуциращи захари като източник на спонтанни мутации в чревната бактерия *Escherichia coli*. Списание на БАН, 2012;125(1):15-20.
- Adhikary S, Cato MC, McGary KL, Rokas A, Eichman BF. Non-productive DNA damage binding by DNA glycosylase-like protein Mag2 from *Schizosaccharomyces pombe*. DNA repair. 2013 Mar 1;12(3):196-204. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2012.12.001>
- Bennett BD, Kimball EH, Gao M, Osterhout R, Van Dien SJ, Rabinowitz JD. Absolute metabolite concentrations and implied enzyme active site occupancy in *Escherichia coli*. Nature chemical biology. 2009 Aug;5(8):593-9. <https://doi.org/10.1038/nchembio.186>
- Bucala R, Model P, Russel M, Cerami A. Modification of DNA by glucose 6-phosphate induces DNA rearrangements in an *Escherichia coli* plasmid. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1985 Dec;82(24):8439-42. <https://doi.org/10.2307/26604>
- Bucala, R., Model, P., & Cerami, A. (1984). Modification of DNA by reducing sugars: a possible mechanism for nucleic acid aging and age-related dysfunction in gene expression. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 81(1), 105–109. <https://doi.org/10.1073/PNAS.81.1.105>
- Das MR, Bag AK, Saha S, Ghosh A, Dey SK, Das P, Mandal C, Ray S, Chakrabarti S, Ray M, Jana SS. Molecular association of glucose-6-phosphate isomerase and pyruvate kinase M2 with glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in cancer cells. BMC cancer. 2016 Dec;16:1-2. <https://doi.org/10.1186/S12885-016-2172-X>
- Davies C, Muirhead H, Chirgwin J. The structure of human phosphoglucose isomerase complexed with a transition-state analogue. Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography. 2003 Jun 1;59(6):1111-3. <https://doi.org/10.1107/S0907444903007352>.
- Doychev K, Georgieva V, Boteva E, Mironova R. Modification of DNA with glucose 6-phosphate to examine the glycolytic enzyme phosphoglucose isomerase for DNA-amadoriase activity. CR Acad. Bulg. Sci. 2021 Jan 1;74(6):843-51. <https://doi.org/10.7546/CRABS.2021.06.06>
- Funasaka T, Yanagawa T, Hogan V, Raz A. Regulation of phosphoglucose isomerase/autocrine motility factor expression by hypoxia. The FASEB journal. 2005 Sep;19(11):1422-30. <https://doi.org/10.1096/FJ.05-3699COM>
- Grazi E, Flora ADe, Pontremoli S. The inhibition of phosphoglucose isomerase by D-erythrose 4-phosphate. Biochemical and Biophysical Research Communications. 1960 Feb 2; 2: 121-25. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(60\)90201-1](https://doi.org/10.1016/0006-291X(60)90201-1).
- Hoque MA, Fard AT, Rahman M, Alattas O, Akazawa K, Merican AF. Comparison of dynamic responses of cellular metabolites in *Escherichia coli* to pulse addition of substrates. Biologia. 2011 Dec;66:954-66. <https://doi.org/10.1007/BF00427206>

- Jeffery CJ, Hardré R, Salmon L. Crystal structure of rabbit phosphoglucose isomerase complexed with 5-phospho-D-arabinonate identifies the role of Glu357 in catalysis. *Biochemistry*. 2001 Feb 13;40(6):1560-6. <https://doi.org/10.1021/bi0018483>
- Jiao J, Gao F, Liu J, Lv Z, Liu C. A structural basis for the functional differences between the cytosolic and plastid phosphoglucose isomerase isozymes. *Plos one*. 2022 Sep 1;17(9):e0272647. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0272647>
- Kovvali, S., Gao, Y., Cool, A., Lindert, S., Wysocki, V. H., Bell, C. E., & Gopalan, V. (2023). Insights into the catalytic mechanism of a bacterial deglycase essential for utilization of fructose-lysine. *Protein Science : A Publication of the Protein Society*, 32(7), e4695. <https://doi.org/10.1002/PRO.4695>
- Kumar K, Moirangthem R, Kaur R. Genome protection: histone H4 and beyond. *Current genetics*. 2020 Oct;66:945-50. <https://doi.org/10.1007/S00294-020-01088-6>
- Lee AT, Cerami A. Elevated glucose 6-phosphate levels are associated with plasmid mutations in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1987 Dec;84(23):8311-4. <https://doi.org/10.1073/pnas.84.23.831>
- Lee JH, Chang KZ, Patel V, Jeffery CJ. Crystal structure of rabbit phosphoglucose isomerase complexed with its substrate D-fructose 6-phosphate. *Biochemistry*. 2001 Jul 3;40(26):7799-805. <https://doi.org/10.1021/bi002916o>
- Li J, Tan J, Zhuang L, Banerjee B, Yang X, Chau JF, Lee PL, Hande MP, Li B, Yu Q. Ribosomal protein S27-like, a p53-inducible modulator of cell fate in response to genotoxic stress. *Cancer Research*. 2007 Dec 1;67(23):11317-26. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-1088>
- Maiti A, Pozharski E, Drohat AC. Crystal structure of human thymine DNA glycosylase bound to a DNA substrate analog reveals the molecular basis of specificity and catalysis. *FASEB Journal*. 2011 Apr 1;25(S1):500.8. https://doi.org/10.1096/fasebj.25.1_supplement.500.8
- Meyer-Siegler K, Mauro DJ, Seal G, Wurzer J, Deriel JK, Sirover MA. A human nuclear uracil DNA glycosylase is the 37-kDa subunit of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1991 Oct 1;88(19):8460-4. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.19.8460>
- Mironova R, Niwa T, Handzhiyski Y, Sredovska A, Ivanov I. Evidence for non-enzymatic glycosylation of Escherichia coli chromosomal DNA. *Molecular microbiology*. 2005 Mar;55(6):1801-11. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.04504.x>
- Molecular Operating Environment (MOE), 2022.02 Chemical Computing Group ULC, 910-1010 Sherbrooke St. W., Montreal, QC H3A 2R7, 2024.
- Mullins EA, Shi R, Parsons ZD, Yuen PK, David SS, Igarashi Y, Eichman BF. The DNA glycosylase AlkD uses a non-base-flipping mechanism to excise bulky lesions. *Nature*. 2015 Nov 12;527(7577):254-8. <https://doi.org/10.1038/NATURE15728>
- Pani B, Nudler E. Bacterial histones unveiled. *Nature Microbiology*. 2023 Nov;8(11):1939-41. <https://doi.org/10.1038/s41564-023-01509-5>
- Price NE, Johnson KM, Wang J, Fekry MI, Wang Y, Gates KS. Interstrand DNA–DNA cross-link formation between adenine residues and abasic sites in duplex DNA. *Journal of the American Chemical Society*. 2014 Mar 5;136(9):3483-90. https://doi.org/10.1021/JA410969X/SUPPL_FILE/JA410969X_SI_001.PDF
- Rajas F, Gautier-Stein A, Mithieux G. Glucose-6 phosphate, a central hub for liver carbohydrate metabolism. *Metabolites*. 2019 Nov 20;9(12):282. <https://doi.org/10.3390/metabo9120282>
- Read J, Pearce J, Li X, Muirhead H, Chirgwin J, Davies C. The crystal structure of human phosphoglucose isomerase at 1.6 Å resolution: implications for catalytic mechanism, cytokine activity and haemolytic anaemia. *Journal of molecular biology*. 2001 Jun 1;309(2):447-63. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2001.4680>
- Schreyer R, Böck A. Phosphoglucose isomerase from Escherichia coli K10: Purification, properties and formation under aerobic and anaerobic condition. *Archives of Microbiology*. 1980 Oct;127:289-96. <https://doi.org/10.1007/BF00427206>
- Seidel, W., & Pischetsrieder, M. (1998a). DNA-glycation leads to depurination by the loss of N2-carboxyethylguanine in vitro. *Cellular and Molecular Biology (Noisy-Le-Grand, France)*, 44(7), 1165–1170. <https://europemc.org/article/med/9846899>
- Solomons JG, Zimmerly EM, Burns S, Krishnamurthy N, Swan MK, Krings S, Muirhead H, Chirgwin J, Davies C. The crystal structure of mouse phosphoglucose isomerase at 1.6 Å resolution and its complex with glucose 6-phosphate reveals the catalytic mechanism of sugar ring opening. *Journal of molecular biology*. 2004 Sep 17;342(3):847-60. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2004.07.085>
- Sun AQ, Yüksel KÜ, Jacobson TM, Gracy RW. Isolation and characterization of human glucose-6-phosphate isomerase isoforms containing two different size subunits. *Archives of biochemistry and biophysics*. 1990 Nov 15;283(1):120-9. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(90\)90621-5](https://doi.org/10.1016/0003-9861(90)90621-5)

- Sun RC, Dukhande VV, Zhou Z, Young LE, Emanuelle S, Brainson CF, Gentry MS. Nuclear glycogenolysis modulates histone acetylation in human non-small cell lung cancers. *Cell metabolism*. 2019 Nov 5;30(5):903-16. <https://doi.org/10.1016/J.CMET.2019.08.014>
- Sun S, He H, Ma Y, Xu J, Chen G, Sun Y, Xiong X. Inactivation of ribosomal protein S27-like impairs DNA interstrand cross-link repair by destabilization of FANCD2 and FANCI. *Cell Death & Disease*. 2020 Oct 13;11(10):852. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-03082-9>
- Sun YJ, Chou CC, Chen WS, Wu RT, Meng M, Hsiao CD. The crystal structure of a multifunctional protein: phosphoglucose isomerase/autocrine motility factor/neuroleukin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1999 May 11;96(10):5412-7. <https://doi.org/10.1073/PNAS.96.10.5412>
- Takano K, Nakamura T, Sekiguchi M. Roles of two types of O6-methylguanine-DNA methyltransferases in DNA repair. *Mutation Research/DNA Repair*. 1991 Jan 1;254(1):37-44. [https://doi.org/10.1016/0921-8777\(91\)90038-Q](https://doi.org/10.1016/0921-8777(91)90038-Q)
- The PyMOL Molecular Graphics System, Version 3.0 Schrödinger, LLC
- Tokmakov AA, Kurotani A, Sato KI. Protein pI and intracellular localization. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2021 Nov 29;8:775736. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.775736>.
- Totir M, Echols N, Nanao M, Gee CL, Moskaleva A, Gradia S, Iavarone AT, Berger JM, May AP, Zubieta C, Alber T. Macro-to-micro structural proteomics: native source proteins for high-throughput crystallization. *PLoS One*. 2012 Feb 29;7(2):e32498. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032498>
- Varadi M, Anyango S, Deshpande M, Nair S, Natassia C, Yordanova G, Yuan D, Stroe O, Wood G, Laydon A, Židek A. AlphaFold Protein Structure Database: massively expanding the structural coverage of protein-sequence space with high-accuracy models. *Nucleic acids research*. 2022 Jan 7;50(D1):D439-44. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKAB1061>
- Wang W, Wang L, Endoh A, Hummelke G, Hawks CL, Hornsby PJ. Identification of α -enolase as a nuclear DNA-binding protein in the zona fasciculata but not the zona reticularis of the human adrenal cortex. *Journal of endocrinology*. 2005 Jan 1;184(1):85-94. <https://doi.org/10.1677/joe.1.05909>
- Welch SG. Qualitative and quantitative variants of human phosphoglucose isomerase. *Human Heredity*. 1971 May 1;21(5):467-77. <https://doi.org/10.1159/000152439>
- Wiame, E., Delpierre, G., Collard, F., & Van Schaftingen, E. (2002). Identification of a Pathway for the Utilization of the Amadori Product Fructoselysine in *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry*, 277(45), 42523–42529. <https://doi.org/10.1074/jbc.M200863200>
- Yang H, Wen YY, Zhao R, Lin YL, Fournier K, Yang HY, Qiu Y, Diaz J, Laronga C, Lee MH. DNA Damage–Induced Protein 14-3-3 σ Inhibits Protein Kinase B/Akt Activation and Suppresses Akt-Activated Cancer. *Cancer research*. 2006 Mar 15;66(6):3096-105. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-3620>
- Yarosh DB. The role of O6-methylguanine-DNA methyltransferase in cell survival, mutagenesis and carcinogenesis. *Mutation Research/DNA Repair Reports*. 1985 Jan 1;145(1-2):1-6. [https://doi.org/10.1016/0167-8817\(85\)90034-3](https://doi.org/10.1016/0167-8817(85)90034-3)