



北京大学
PEKING UNIVERSITY

人源Rad52蛋白的生物信息学分析

报告人：杨昌儒

邮箱：y-cr2014@pku.edu.cn

孔道春教授实验室简介



• 研究方向:

- 1) 真核细胞DNA复制的机理;
- 2) 细胞维持DNA复制叉稳定的分子机制;
- 3) 真核细胞双链DNA断裂修复的机制;
- 4) 检查点对DNA代谢的调控机制;
- 5) 染色体结构与DNA代谢的关系;
- 6) 基因组不稳定导致细胞癌变的机制。

目录

- 1. 背景介绍
- 2. 人源RAD52 (*HsRad52*)的生信分析结果与讨论
- 3. 总结与展望
- 4. 课程感悟、致谢与参考文献

1. 背景介绍

- (I) DNA双链断裂 (DNA Double Strand Break, DSB) 与同源重组 (Homologous Recombination, HR) 修复途径
- (II) 人细胞*HsBRCA2* - *HsRad51*相互作用与芽殖酵母细胞*ScRad52* - *ScRad51*相互作用
- (III) 研究矛盾与需要解决的问题

DSB与HR修复：DSB来源

- 作为DNA所能承受的最严重的损伤，DSB可以由以下因素造成：

① 外部因素

电离辐射 (IR)、紫外线 (UV)、化疗药物、机械损伤、病毒入侵等。

② 内部因素

偶发性DSB：活性氧 (ROX)、复制叉断裂 (RFC)、复制叉倒转 (RFR)等。

程序性DSB：核酸内切酶 (RE)、Spo11 (减数分裂)、HO (酵母交配型转换)等。

DSB与HR修复：DSB修复

- DSB的修复途径与细胞周期（/周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 活性）密切相关

G1期-S期前期

S期后期-G2期

M期前期-M期后期

NhEJ: **ON**

NhEJ: **ON**

NhEJ: **OFF**

HR: **OFF** (RAD51纤丝)

HR: **ON** (RAD51纤丝)

HR: **OFF** (RAD51纤丝)

CDK活性：低 (G1期) → 中 (S期) → 高 (M期) → 低 (G1期)

小结：HR与NhEJ（非同源末端连接）相互竞争，HR仅在S-G2期发生，NhEJ可以在M期之外的阶段发生。

(Hustedt and Durocher, 2016)

同源重组 (HR)



<i>E. coli</i>	<i>S. cerevisiae</i>	Human
本报告涉及的HR相关蛋白		
BRCA1/BRCA2 - 完整蛋白为脊椎动物所特有，参与HR过程。		
Rad52/Rad22超家族蛋白 - 催化Rad51与ssDNA结合形成核纤丝		
RecA/Rad51 家族蛋白 - 参与ssDNA链入侵过程		
Dissolution	RecQ-TopoIII	Sgs1-Top3-Rmi1
BLM-TOPOIII α -RMI1-RMI2		

(Kowalczykowski, 2015)

Rad51同源序列比对

SS pred.	CCHHHHHHHHHHHHHHHCCCCCEEECCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCHHHHHHHHHHCCHHHHHHHHHHCCCCCHHHHHHCCCCCHHHHHHCCCCHHHHHH
RAD51_YEAST	MSQVQEQHI SESQLQYGNGLMSTVPADLSQSVVDGNGNGSSEIDIEATNGSGDGGGLQEAEAQGEMEDEAYDEAALGSFVPIEKLQVNGITMADVKKLRESGLHTAEAVAYAPRKDLLE 120
RAD51_HUMAN	-----MAMQMQLLEANADT--SVEEESFGPQPI SRL EQCGINANDVKKLEEAGFHTVEAVAYAPKKELIN 62
RAD51_MOUSE	-----MAMQMQLLEANADT--SVEEESFGPQPI SRL EQCGINANDVKKLEEAGFHTVEAVAYAPKKELIN 62
RAD51_CRIGR	-----MAMQMQLLEANADT--SVEEESFGPQPI SRL EQCGISANDVKKLEEAGFHTVEAVAYAPKKELIN 62
RHP51_SCHPO	-----MADTEVEMQVSAADTN-----NNENQAQSNYEYDVNVQD--EEDEAAAGPMPQLMLEGNGITASDIKKIHEAGYYTVESIAYTPKRQLLL 84
SS pred.	HHCCCCCHHHHHHHHHHHHHHHCCCCCHHHHHHHHHHCCECCCCCHHHHHHCCCCCCCCCEEECCCCCHHHHHHHHHHHHHCCHHHCCCCCEEEEECCCCCHHHHHHHHHHCCCCCH
RAD51_YEAST	IKGISEAKADKLLNEAARLVPMGFVTAADFHMRRSELI CLTTGSKNLDTLGGGVETGSITELFGEFR TGKSQLCHTLAVTCQIPLDIGGEGKCLYIDTEGTFRPVRLVSIQRFGLDP 240
RAD51_HUMAN	IKGISEAKADKILAEAAKLVPMGFTTATEFHQRRSEIIQITTGSKELDKLLQGGIETGSITEMFGEFR TGKTQICHTLAVTCQLPIDRGGGEGKAMYIDTEGTFRPERL LAVAERYGLSG 182
RAD51_MOUSE	IKGISEAKADKILAEAAKLVPMGFTTATEFHQRRSEIIQITTGSKELDKLLQGGIETGSITEMFGEFR TGKTQICHTLAVTCQLPIDRGGGEGKAMYIDTEGTFRPERL LAVAERYGLSG 182
RAD51_CRIGR	IKGISEAKADKILAEAAKLVPMGFTTATEFHQRRSEIIQITTGSKELDKLLQGGIETGSITEMFGEFR TGKTQICHTLAVTCQLPIDRGGGEGKAMYIDTEGTFRPERL LAVAERYGLSG 182
RHP51_SCHPO	IKGISEAKADKLLGEASKLVPMGFVTADEYHIRSELIITTTGSKQLDITLGGGVETGSITELFGEFR TGKSQLCHTLAVTCQLPIDMGGGEGKCLYIDTEGTFRPVRL LAVADRYGLNG 204
SS pred.	HHHHHHHHHHHHHCCHHHHHHHHHHHHHHHHHCCCCCEEEEECHHHHCCCCCCCCCHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHCCEEEEECCCCCECCCCCCCCCCCCCCCCCHHHCCCCEEEE
RAD51_YEAST	DDALNNVAYARAYNADHQRLRLDAAQMMSESRFSLIVDVSVMALYRTDFSGRGE L SARQMHLAKFMRLQRLADQFGVAVVITNQVVAQVDGGMAFNPDPKKPIGGNI MAHSSTTRLGF 360
RAD51_HUMAN	SDVLDNVAYARAFNTDHTQQLLYQASAMMVESRYALLIVDSATALYRTDYSGRGEL SARQMHLARFLRMLLRLADEFGVAVVITNQVVAQVDGAAMFAADPKKPIGGNIIAHASTTRLYL 302
RAD51_MOUSE	SDVLDNVAYARAFNTDHTQQLLYQASAMMVESRYALLIVDSATALYRTDYSGRGEL SARQMHLARFLRMLLRLADEFGVAVVITNQVVAQVDGAAMFAADPKKPIGGNIIAHASTTRLYL 302
RAD51_CRIGR	SDVLDNVAYARAFNTDHTQQLLYQASAMMVESRYALLIVDSATALYRTDYSGRGEL SARQMHLARFLRMLLRLADEFGVAVVITNQVVAQVDGAAMFAADPKKPIGGNIIAHASTTRLYL 302
RHP51_SCHPO	EEVLDNVAYARAYNADHQLELLQQAANMMSESRFSLLVVDSCTALYRTDFSGRGE L SARQMHLARFMRTLQRLADEFGI AVVITNQVVAQVDGI-SFNPDPKKPIGGNIIAHSSSTRLSL 323
SS pred.	EECCCCCEEEEECCCCCCCCEEEEEECCCCCECCCCCCCC--
RAD51_YEAST	KKGKGCQRLCKVVDSPCLPEAEVFAIYEDGVGDPREED-- 400
RAD51_HUMAN	RKGRGETRICKIYDSPCLPEAEAMFAINADGVGDAKD---- 339
RAD51_MOUSE	RKGRGETRICKIYDSPCLPEAEAMFAINADGVGDAKD---- 339
RAD51_CRIGR	RKGRGETRICKIYDSPCLPEAEAMFAINADGVGDAKD---- 339
RHP51_SCHPO	RKGRGEQRICKIYDSPCLPESEAIFAINS DGVGDPKEIIPV 365

取芽殖酵母 (*ScRad51*, 400 aa)、人 (*HsRad51*, 339 aa)、中国地鼠 (339 aa)、小鼠 (339 aa)、裂殖酵母 (*Rhp51*, 365aa) 的Rad51蛋白质序列做比对分析。

ScRad51 二级结构由PSIPRED服务器预测。序列由Uniprot比对(CLUSTAL O(1.2.4))。

H表示α螺旋, E表示β折叠, C表示环。

绿底黑字: ATP结合口袋;

青底黑字: 芽殖酵母、人、小鼠、地鼠的其它保守位点;

黄底蓝字: 人、小鼠、地鼠的差异位点。

Rad51的性质

- 在ssDNA链上聚合螺旋状的同源多聚体，形成“Rad51核纤丝蛋白链”（入侵链）。
- 人、小鼠、中国地鼠的序列高度相似（97.9%）
- * *ScRad51*、*Rhp51*、和*HsRad51*在N端附近序列有较大区别（*HsRad51*“缺失”了一段），而往后的序列有较高相似性。

Rad51无序区预测

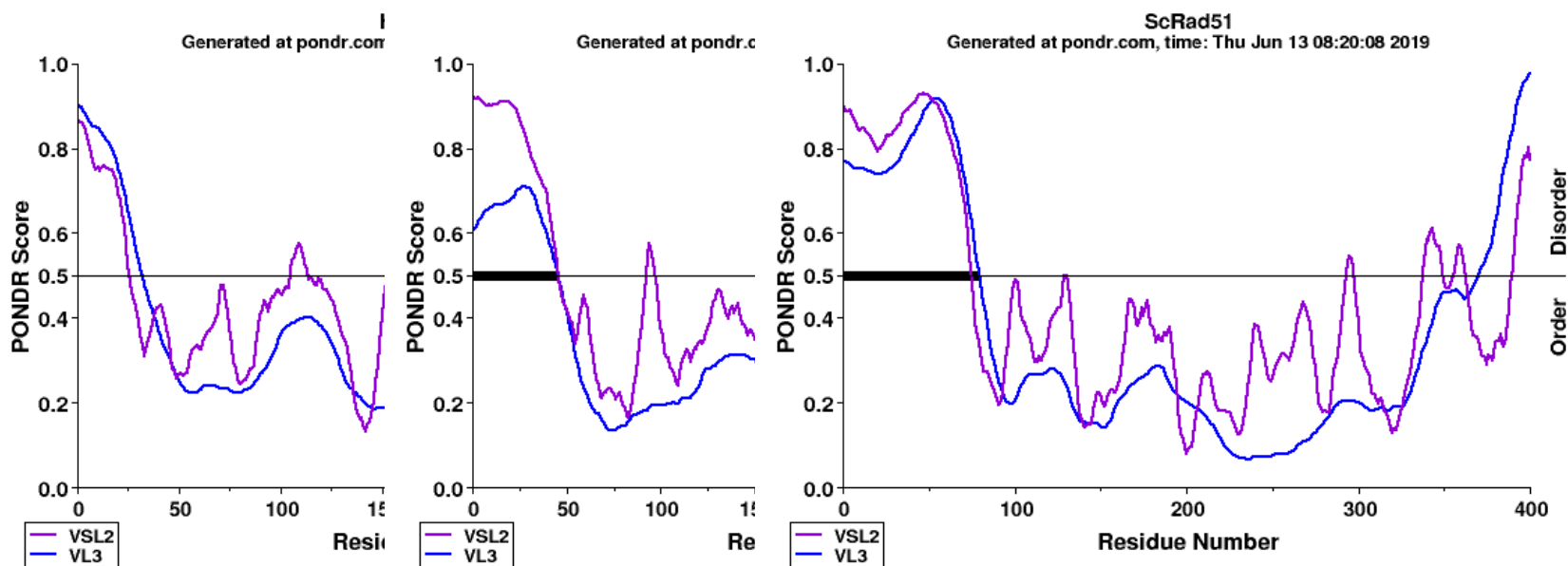


图 蛋白质无序区 (IDR) 由PONDOR服务器预测，采用的算法为VSL2和VL3-BA。其中HsRad51的无序区为1-31，Rhp51的无序区为1-45，ScRad51的无序区为1-79（以VL3为基准）。

小结：可以看到三者的N端都是无序区，而且它们的长短有较大差异。HsRad51最短，Rhp51次之，ScRad51最长。

暗示：三者响应上游信号通路的过程可能有不同。

HsBRCA2 - HsRad51 相互作用

- (1) *HsBRCA2* 简介
- (2) *HsBRCA2 - HsRad51* 具体作用模式

HsBRCA1/2简介

- “乳腺癌敏感型”基因1/2 (Breast Cancer Susceptibility-type 1/2), 为抑癌基因。分别于1990年和1994年被发现。
- 有BRCA1缺陷（突变）的女性，罹患乳腺癌和卵巢癌的风险分别是50%-85%和15%-45%；有BRCA2缺陷的女性，罹患乳腺癌和卵巢癌的风险分别是50%-85%和10%-20%。
- 欧美女性的乳腺癌平均发病率比亚洲女性高。
- 完整基因为脊椎动物所特有。

HsBRCA1/2简介



安吉丽娜·朱莉
(来源：百度百科)

“.....尽管不同女性存在着个体差异，但据医生估计，我患乳腺癌的几率高达87%，患卵巢癌的几率也达到50%。”

“当我了解到这一现实，我决定先发制人，尽可能地降低患癌风险。因此，我决定接受预防性双乳切除术。我首先选择乳房手术，是因为我罹患乳腺癌的几率高于卵巢癌，乳房手术也更为复杂.....”

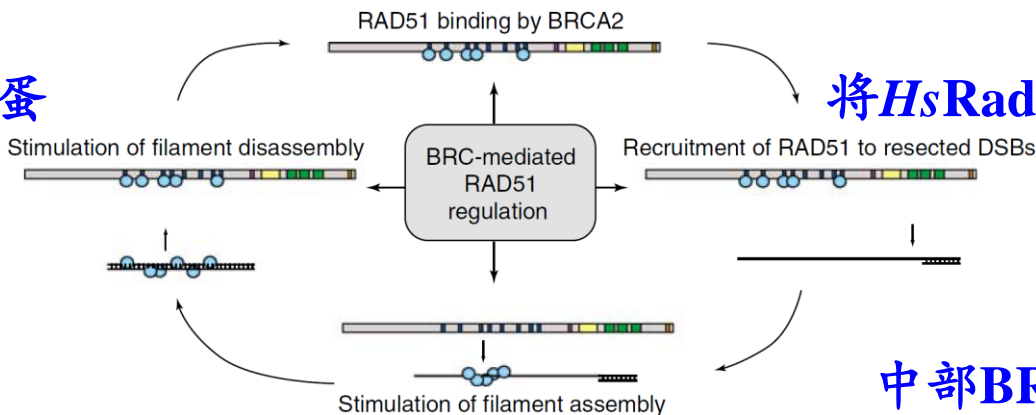
《我的医疗选择》

http://www.china.org.cn/chinese/2013-05/15/content_28832669.htm

HsBRCA2 - HsRad51相互作用模型

BRC与HsRad51结合

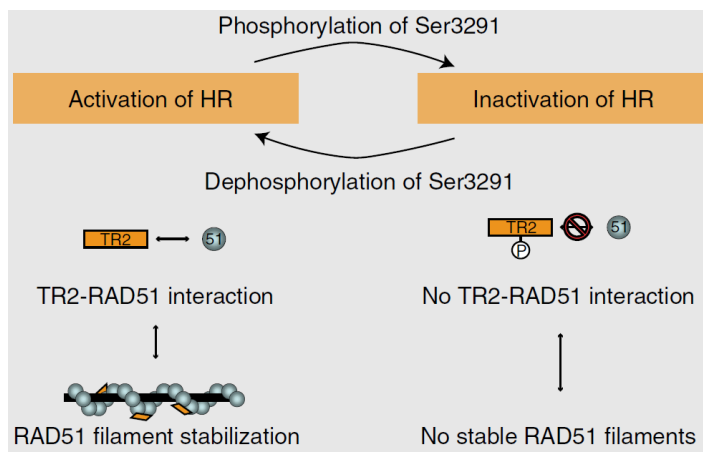
Rad51核纤丝蛋白链解离



将HsRad51招募至DSB

Rad51核纤丝蛋白链组装

中部BRC重复结构域
BRC1-BRC8



C末端结构域 (CTRB)
pSer3291去磷酸化→
TR2-Rad51相互作用
稳定Rad51核纤丝蛋白链

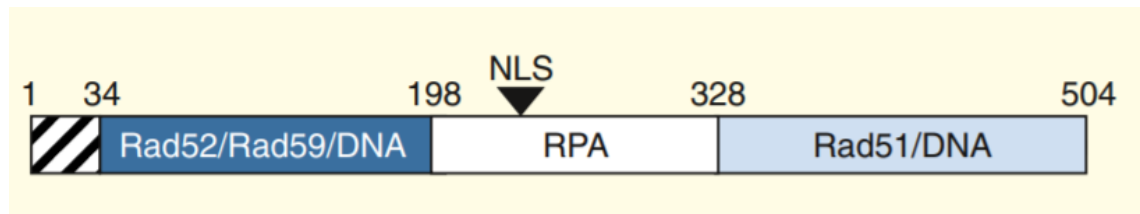
(Thorslund and West, 2007)

ScRad52 - ScRad51 相互作用

- (1) ScRad52 简介
- (2) ScRad52 - ScRad51 具体作用模式

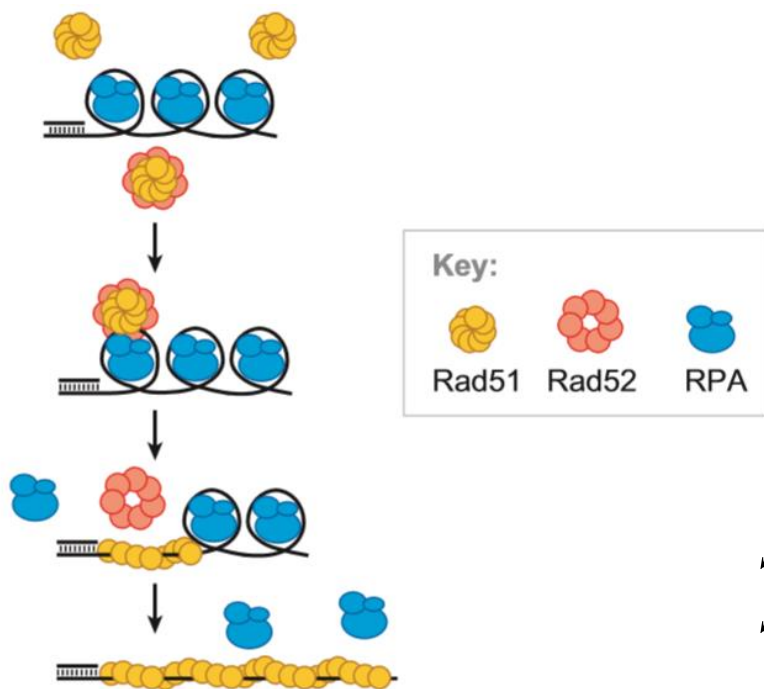
ScRad52简介

- “上位效应”基因 Rad52
- 同样能够形成结合ssDNA的多聚体；
- 促进ssDNA链交换反应；
- 协助ScRad51取代结合在ssDNA上的保护蛋白RPA以形成Rad51-核纤丝蛋白链。



(Mortensen et al., 2009)

ScRad52-ScRad51相互作用模型



ScRad52多聚体将ScRad51多聚体运输到RPA保护的ssDNA处，通过链交换反应使得RPA与ssDNA解离，同时ScRad51与ssDNA结合。

ScRad52 (³⁷²RDSVYEFKFAPKGGKQLS³⁸⁷):
ScRad52-ScRad51相互作用序列

(Krejci et al., 2002; San Filippo et al., 2008)

HsBRCA2与ScRad52序列比对

- CTRB结构域（3264-3330） - 作用序列

NSSAFSGFSTASGKQV
..|.:.:.|.:.: ..|||:
RDSVYEKFA-PKGKQL

- BRC Repeat结构域（1009-2038） - 作用序列

RKSV---STPVSAQM
|.|| ..|.:.:.|.:.:
RDSVYEKFAPPKGKQL

小结：比对结果不尽如人意，说明HsBRCA2的两个Rad51作用结构域和ScRad52-ScRad51作用序列之间无相似性，暗示这两种蛋白与Rad51的相互作用方式很可能不一致。

Needle (v6.0.1) - Needleman-Wunsch BLOSUM62

HsBRCA2与ScRad52序列比对

• 局部比对

```

1184 GTVEIKRKFAGLLKNDCKNSASGYLTDENEVGRGFYSAHGTKLNVSTEA 1233
      |||.:|:.....: ..||| :||.....|||.:|.|.| .....
109  GTVENERRKPAAFER-AKSA---VTDALKRSLRGFGNALGNCL-YDKDF 153
1234 LQKAVKLFSDIENISEETSAEVHPISLSSSKCHDSVVSFMFKIENHNDKTV 1283
      |.|.|:..|.|.....|
154  LAKIDKVKFDPDFDE-----
1476 DILSYEETDIVKHKILKESVPVGTGNQLVTFQGPQPERDEKIKEPTLLGFH 1525
      ::|:|:..:| .|:| |...| ||:: :.|.
288  NVLTTEKDPVV----AKQS-PTASSN-----PEAEQ-----ITFV 317
1526 TASGKKVKIAKESLDKVKNFLFDEKEQG-----TSEITSFSHQWAKTLKYR 1570
      ||.. .....|.....:|.|. |.:|:..|.|.||
318  TAKA-ATSVQNERIYIGESIFDPKYQAQSI RHTVDQTTSKHIPASVLK-- 364
1571 EACKDLELACETIEITAAPKCKEMQNSLNNDKNLVS IETVVPPKLL---S 1617
      .|:..|:~::~.....|||.|:~: ~:~:~|. | .|:~| .
365  --DKTMTTARDSVYEKFAPKQKQL-SMKNNDKEL-----GPHMLEGAG 404
1618 DNLCRQTENLKTSKSI F 1634
      :~:~:~|:~:~:~|:~:~:~|
405  NQVPRETTPIKTNATA F 421

```

BRC1 (1009-1035)

BRC2 (1218-1244)

小结：局部比对的结
果表明ScRad52与
BRC Repeat结构域相
近。

BRC4 (1523-1549)

BRC5 (1570-1596)



Smith-Waterman BLOSUM62

存在的问题

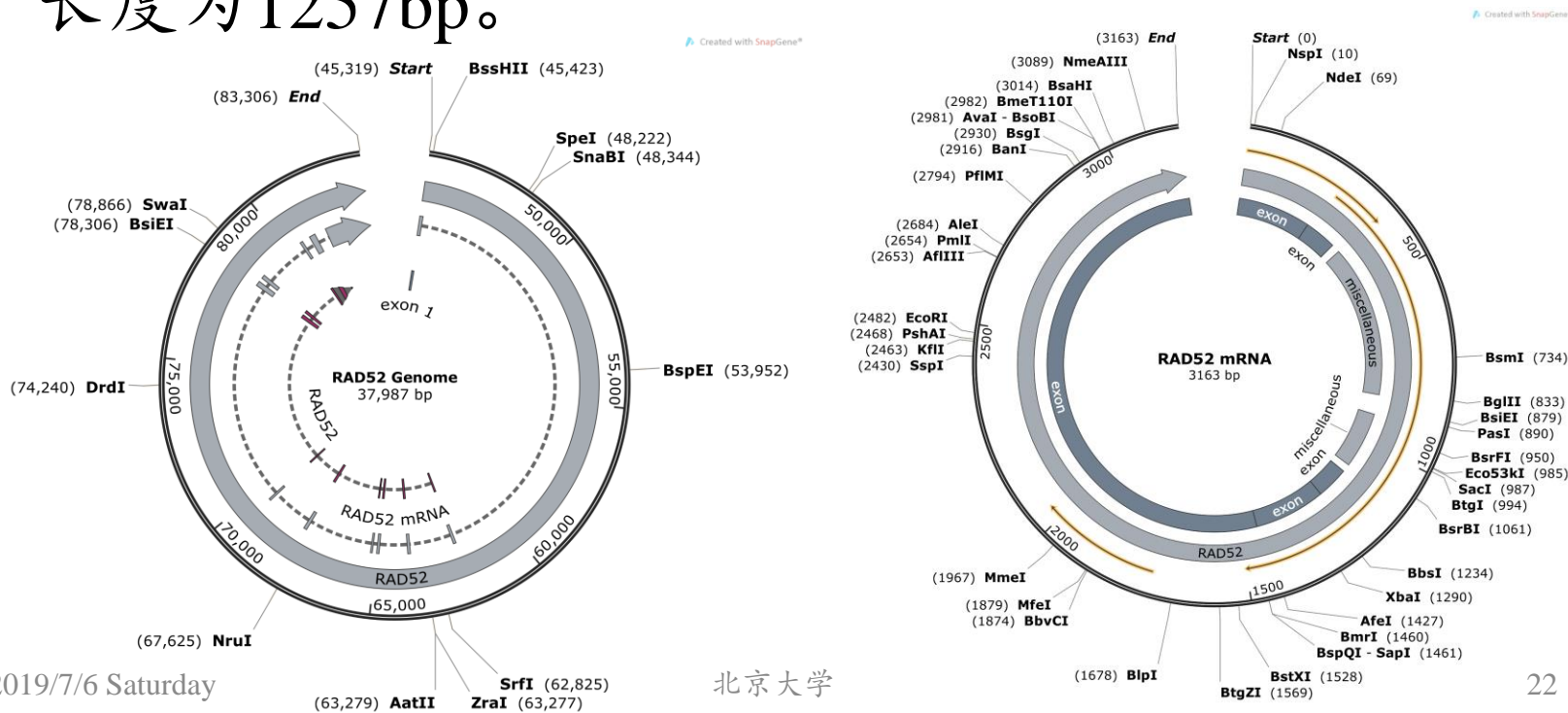
- (1) *HsRad52*的地位比较尴尬
HsBRCA2 / ScRad52 作用相近;
HsRad52 / ScRad52 都有dsDNA/ssDNA链交换功能;
- (2) 论文发表结果有矛盾之处
 - (1) 作为多聚体参与独立于Rad51的重组修复途径?
 - (2) 作为冗余因子与RPA/Rad51有直接相互作用?
 - (3) 作为多聚体参与DNA-RNA杂交链交换?
- (3) Rad52作用尚不明确

2. *HsRad52* 生信分析结果与讨论

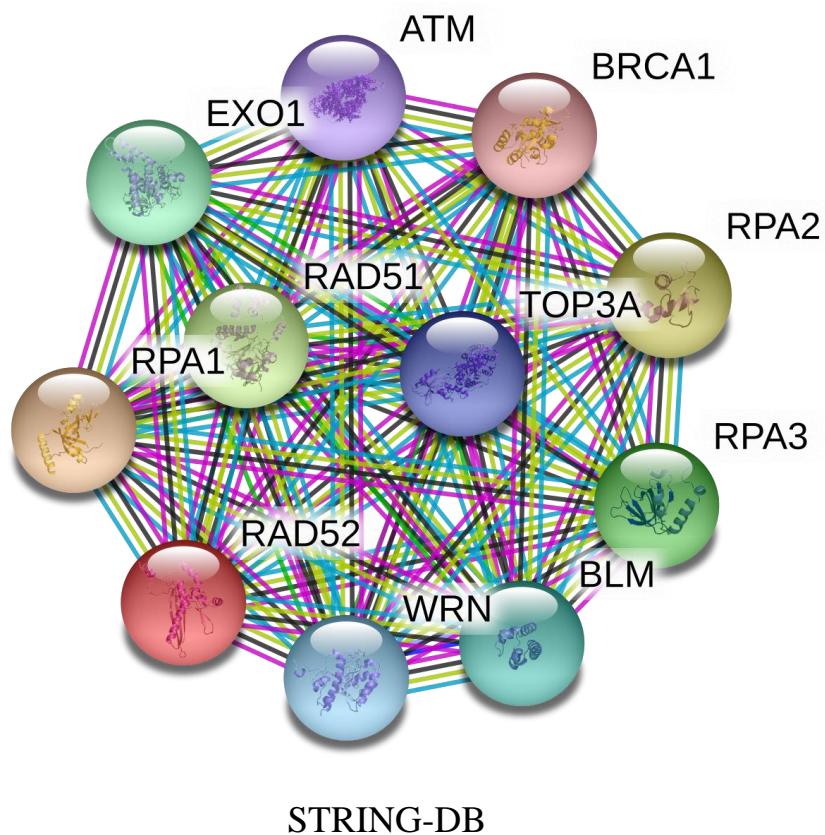
- (I) 基因组分析
 - a. *HsRAD52* 基因座
- (II) 蛋白质分析
 - a. *HsRad52* 参与的蛋白质-蛋白质相互作用
 - b. *HsRad52* 同源序列比对与有序区结构略窥
 - c. *HsRad52* 内在无序区预测与实验暗示
 - d. *HsBRCA2-HsRad52* 序列比对
 - e. *HsRad52* 的RNA结合能力与实验论证

HsRAD52的基因座

- RAD52位于12号染色体p13.13区，共有12个外显子。基因座长度37,987bp，可形成4个剪接异构体，最长的异构体mRNA长度为3,163bp，CDS长度为1257bp。



HsRAD52参与的蛋白质-蛋白质相互作用



可以看出Rad52与Rad51有作用关联，与BRCA1等也有作用关联。可以通过进一步查阅相关文献了解相关信息。

Rad52同源序列比对

```

SS pred.  ----CCCCCCCC----CCCCCHHHHHHHHHCCCCCHHCEECCCCCCCCCHHHHHHHHHHHCCCCCCEEEEEEEEECC--CCEEEEEEEEEEEECCCC
RAD52_YEAST  ---MNEIMDMDEKK-----PVFGNHSEDIQTKLDKGLGPEYISKRVGFGTSRIAYIEGWRVINLANQIFGYNGWSTEVKSVVIDFLDER--QGKFSIGCTAIVRVTLTSG 100
RAD52_HUMAN  MSGTEEAILGGRDHPAAGGGSVLCFGQCQYTAEEYQAIQKALRQRLGPEYISSRMAGGGQKVCYIEGHRVINLANEMFGYNGWAHSITQQNVDFVDLN--NGKFYVGVCAFVRVQLKDG 118
RAD22_SCHPO  MSFEQ-----KQHVASE---DQGHFNTAYSHEEFNFLOSSLTRKLGPEYVSRSGPGGFSVSYIESWKATELANEIFGFNGWSSSIRSINVDFFMDENKENGRIISLGLSVIVRVTIKDG 110
SS pred.  EEEEEEEEEEECCCCCHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHCHHHHHHHHHCCCCCCCC--CCHHHCCCCCHHCHHHHCCCCCHHHHHHCCCCCCCC--CCCCCCCCCCCC
RAD52_YEAST  TYREDIGYGTVENERRKPAAFERAKKSAVTDALKRSLRGFGNALGNCLYDKDFLAKIDKVKFDPPD-FDENNLFRPTDEISESSRTNLTHENQEQQQYPNKRRQLT--KVTNTNPDSTKN 217
RAD52_HUMAN  SYHEDVGYGVSEGLKSKALSLEKARKEAVTDGLKRALRSFGNALGNCILDYLRSLNKLPRQLPLEVDLTKAKRQDLEPSVEEA-----RYNSCRPN---- 211
RAD22_SCHPO  AYHEDIGYGSIDNCRGKASAFEKCKKEGTTDALKRALRNFNGSLGNCMYDKYYLREVGKMKPPTYH-FDSGDLFR-KTDPAARES-----FIKKQKTLNSTRTVNNQPL---- 212
SS pred.  CCCCCCCCCCCCCC--CCCHHCCCCCCCCCCCCCHHHCHHCCCCCCCCCHHCCCCCCCCCHHHHCCCCC-----CCCCCCCCCCCC--
RAD52_YEAST  LVKIENTVSRGTPMM---AAPAEANSKNSSNKDITDLSLDAASKQDQDDLDDSLMFSDDFDQDDLINMGNTNS-----NVLTTEKDPVV--- 298
RAD52_HUMAN  -----MALGHPQLQQVTSRPSH-----AVIPA-DQD-----CSSR-----SLSSSAVESEATHQRKLR--QKQLQQQFRERMEKQQVRVSTPSAEKSEAAPAP-- 294
RAD22_SCHPO  -----VNKGEQ----LAPRRAAELNDEQ--TREIEMYA--DEE-----LDNIFVEDDIIAHLAVAEDTAHPAANNHSEKAGTOINNK-DKGSN-NSAKPVQRSHYTPVAVPQ 305
SS pred.  -----CCCCCCCCCCCCC---CEEEEEEECHHHHCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCHHHCCCCCCCCCHHHHHHHHCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
RAD52_YEAST  -----AKQSP TASSNPEAEQ-----ITFVTAKAATSVQNER YIGEE SIFDPKYQAQSIRHTVDQTTSKHII PASVLKDKTMTTARDSVYEKFA PKGKQLS MKNNDKELGPHMLEGA 403
RAD52_HUMAN  -----PVTHSTPVTVSEPLLEK-----DFLAGVTQ---ELI-KTLEDNSEKWA VTPDAGDGVV KPS SRADPAQTSD-----TLAL----- 360
RAD22_SCHPO  NTSDSVGN AVTDTSPKTLFDPLKPN TGTSPKFI SARAAAAAEGVVSAPFTNMFNPRLDSPSIRKTSI IDHSKSLPVQRAS-----VLP I I K Q S S----- 395
SS pred.  CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC--CC-----CCCC-----CCCCCCCCCCCC--
RAD52_YEAST  GNQVPRETTPIKTNATAFP PAAAPRFA PPSKVVHPNGNGAVPAVPQQRST--RR-----EVGR-----PKINPLHARKPT-- 471
RAD52_HUMAN  -----NNQMV-----TQNRTPHSVCHQKPKAQKSGSWDLQTSADQRTGNWESHRSQDMK-----KRKYDPS----- 418
RAD22_SCHPO  -----QTSPVSNNSMI-----RDS---ESIINER-KENIGLIGVKRS-----LHDSTTSHNKSDLMRTNSDPQSAMRSRENYDATVDKAKKGG 469

```

ScRad52二级结构由PSIPRED服务器预测。序列由Uniprot比对 (CLUSTAL O(1.2.4))。H表示 α 螺旋，E表示 β 折叠，C表示环。

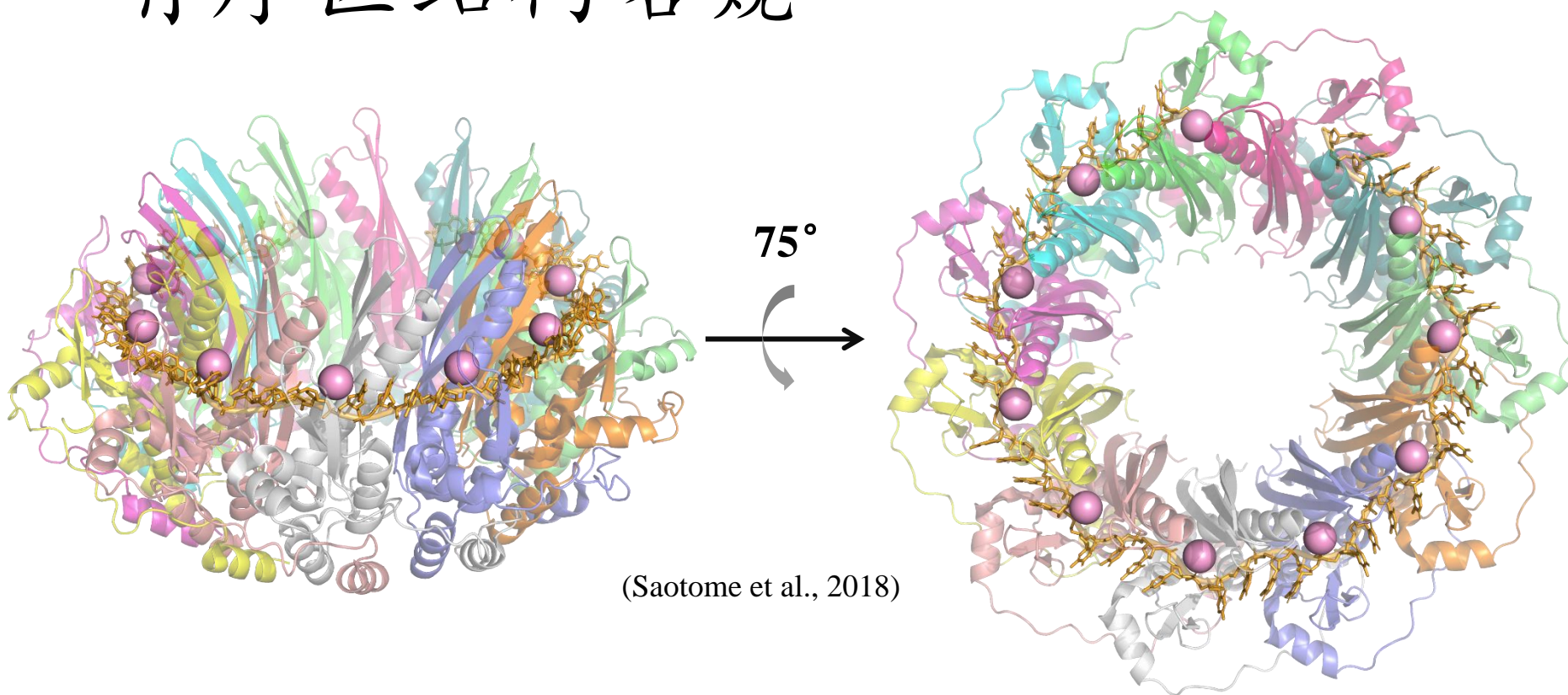
蓝底黑字：相同位点

绿底黑字：ssDNA结合位点

紫框：ScRad52-ScRad51相互作用区，HsRad52、Rad22没有类似序列。

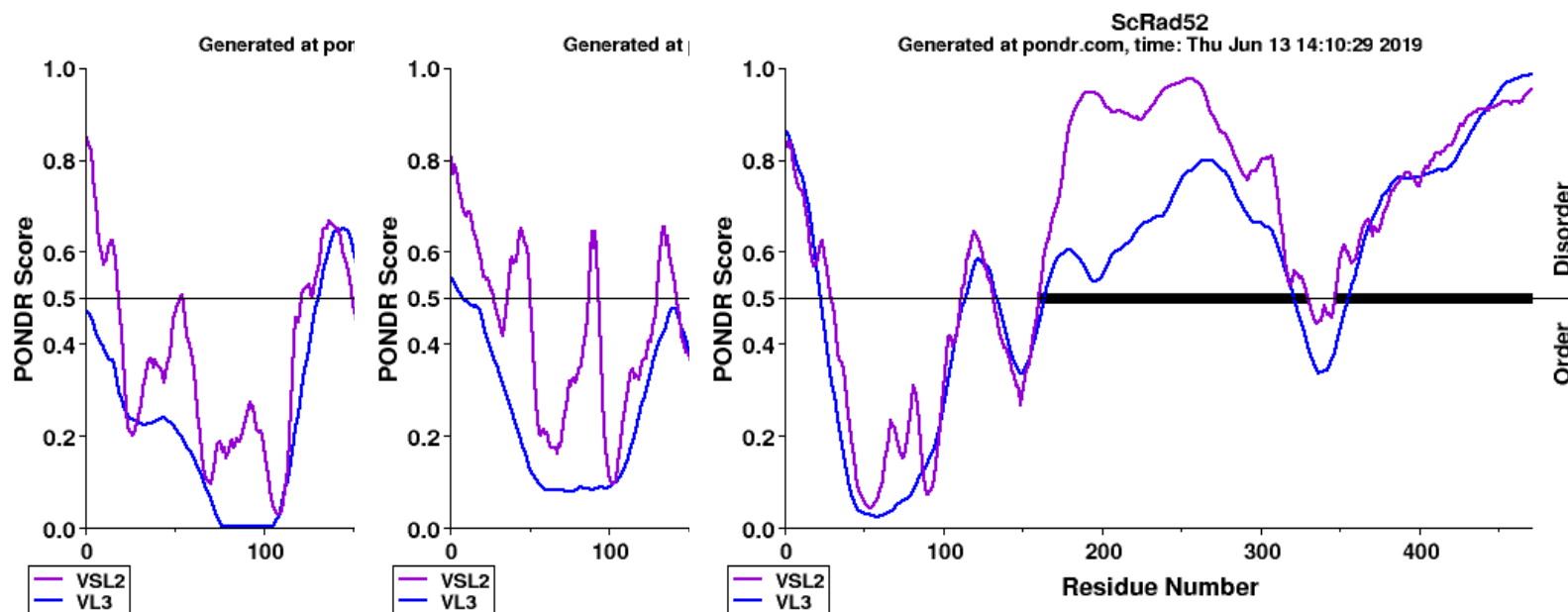
取芽殖酵母 (*ScRad52*)、裂殖酵母 (*Rad22*)、人 (*HsRad52*)的蛋白质序列做序列比对。

有序区结构略窥



*HsRad52*内部DNA结合位点 (Inner DNA Binding Site) 结构 (5XRZ, 25-209)。图示状态为**十一聚体**，金属离子为 K^+ 。

无序区预测与实验暗示



蛋白质无序区 (IDR) 由PONDR服务器预测，采用的算法为VSL2和VL3-BA。其中HsRad52的主无序区为180-418，Rad22的主无序区为189-240、264-346、364-469，ScRad52的无序区为164-320、357-471（以VL3为基准）。

实际操作：*HsRad52-3x FLAG-6x His*在蛋白质纯化过程中非常容易沉淀。

小结与疑问

- 1. 从序列上看，人、裂殖酵母、芽殖酵母的蛋白质序列的N端相似性较高，但C端的相似性很低。
- 2. *HsRad52*、*Rad22*、*ScRad52*的后半部分很有可能是IDR；*ScRad52*通过IDR中的R372 - S387氨基酸序列与*ScRad51*相互作用，然而*HsRad52*、*Rad22*似乎没有这样的序列。
- 3. *HsRad52*与*HsBRCA2*序列之间有无关联？
- 4. 考虑到无序序列可能与RNA结合相关，是否可以预测*Rad52*的RNA结合能力呢？

HsBRCA2-HsRad52序列比对

- 局部比对方法 CTRB (3264-3330)

```

3217 MSSPNCEIYYQSPLSLCMAKRKSVSTPVS AQMTSKCKGEKEIDDQ--KN 3264
    ::||:.....|.....:|...|:..|:..:|:.....|:|:..|  ::
222 VTSPSRPSHAVIPADQDCSSRSLSSSAVESEATHQRKLRQQLQQQFRER 271

3265 CKRRRALDFLSRLLPLPPVSPICTFVSPA AQKAFQPPRSCGTYETPIKK 3314
    .:|:::          .||        :|:|:|:....|:.....:|:|:..
272 MEKQQV-----RVS-----TPSAEKSEAAPPAPPVTHSTPVTV 304

3315 KELNSPQMPFKKFNEISLLESNSIADEELALINTQALLSGSTGEKQFIS 3364
    .|              .|||.:::|.....|||.|..    ...|||:..:
305 SE-----PLLEKDFLAGVTQELIKTLE----DNSEKWAVT 335

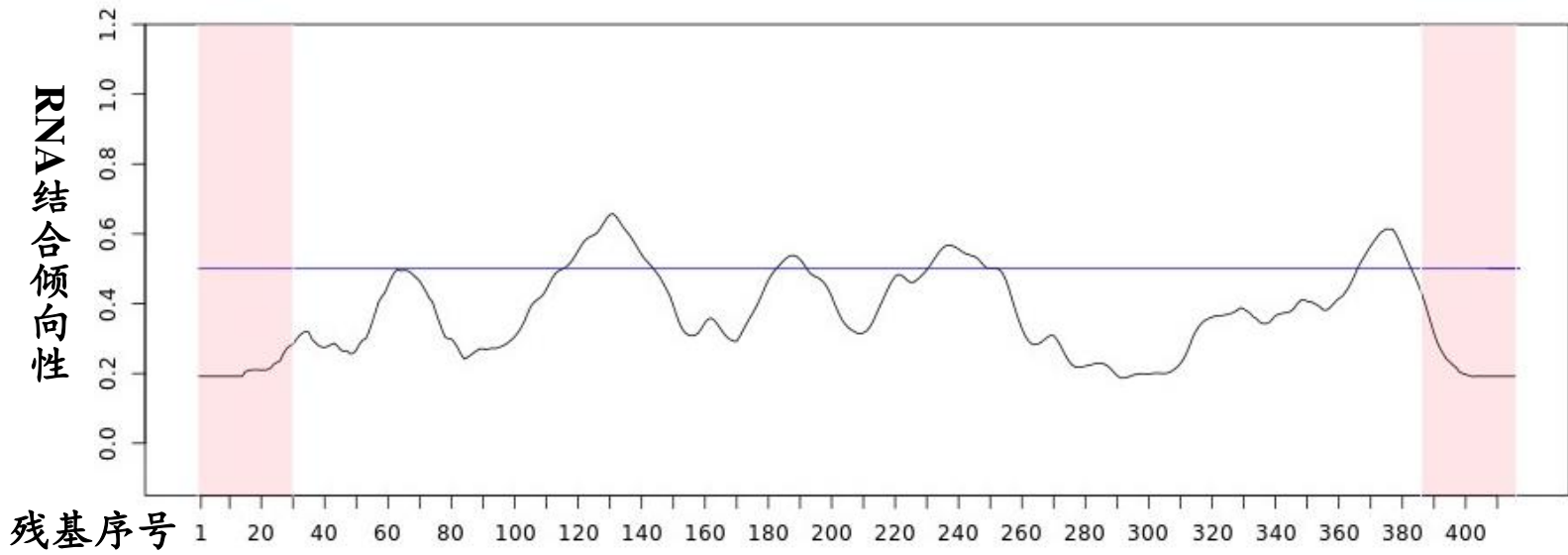
3365 -----VSESTRTAPTSSDYLRRLKRRCTT-----SLIKEQESSQASTEECEKNKQDTITT 3414
    |..|:|..|:..|:|:..|..|:..|..|..|   |:.....:.....|..||
336 PDAGDGVVVKPSSRADPAQTSDTLALNNQMVTONRTPHSVCHQKPQAKSGSWDLQTYADQRTT 398
  
```

小结：局部比对的结果表明HsRad52与CTR B结构域相近。

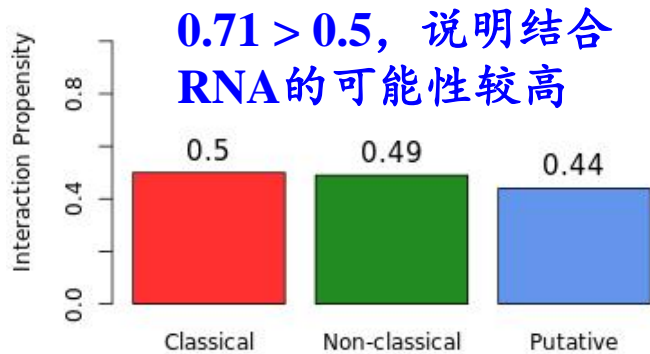


Smith-Waterman BLOSUM62

HsRad52的RNA结合能力



Overall Interaction Score = 0.71



0.71 > 0.5, 说明结合RNA的可能性较高

- > 区域1 氨基酸残基: 106-156 (ssDNA)
- > 区域2 氨基酸残基: 347-399
- > 区域3 氨基酸残基: 211-261

catRAPID Signature

ScRad52的RNA结合能力

Portal Home

catRAPID RNA binding signature

[[catRAPID signature home](#) - [Tutorial](#) - [Group page @ CRG](#)]

Your submission results

Information about the JOB:

ID: 197055

User label: ScRad52

Sequence: [protein.fasta](#)

Generated: 2019-06-15 11:39:09.719941

Protein sequence and putative binding-sites

0.44 < 0.5, 说明基本没有结合RNA的可能性

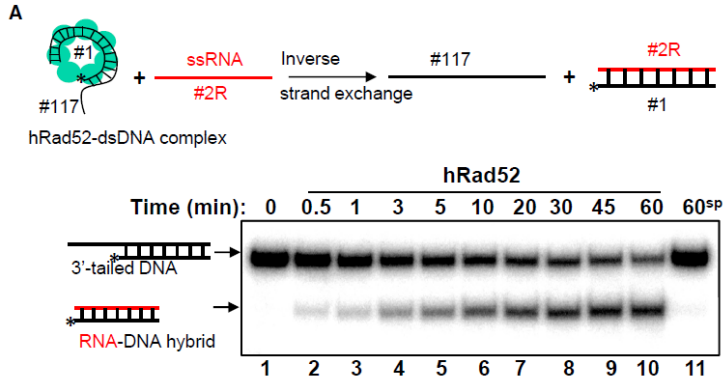
Your sequence is not predicted to be RNA-binding and obtained an overall prediction score of **0.44** *

Would you like to continue with the prediction of the interactome for the entire protein? [catRAPID](#)

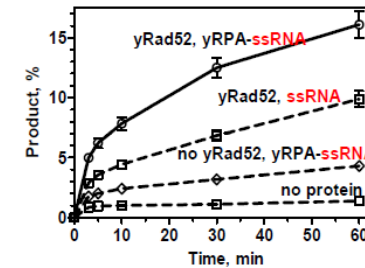
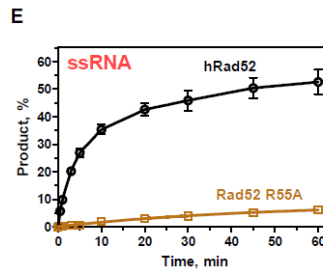
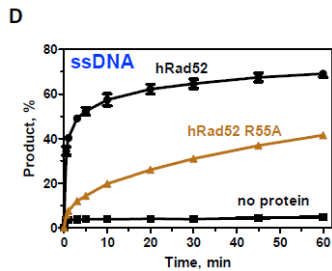
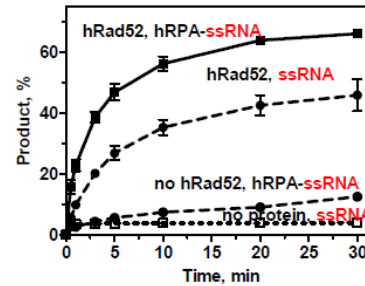
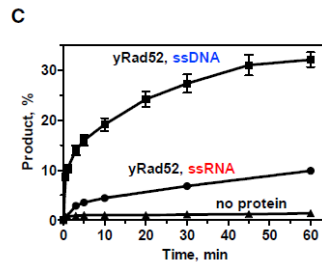
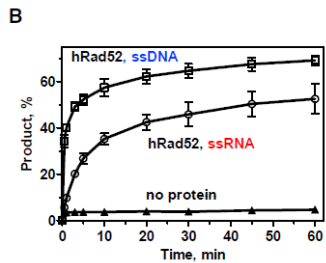
* prediction score < 0.5 suggests no RNA-binding

Continue with a [new submission](#)

HsRad52/ScRad52的RNA结合能力



HsRad52可实现ssDNA和ssRNA的链交换反应，ssDNA交换效率高于ssRNA；
HsRad52 R55A破坏ssDNA和ssRNA链交换反应。



另外，HsRad52交换ssRNA的效率高于ScRad52。

30分钟——

HsRad52: ~ 40%

ScRad52: ~ 5%

RPA的作用?

(Mazina et al., 2017)

3. 总结与展望

- 通过生物信息学分析（数据库查找、序列比对、无序区预测、RNA结合域预测等）初步探讨了HsRad52的已知的和可能的结构与功能，为下一步用生化实验验证提供思路。
- 近期已有工作表明人细胞的DSB附近可以形成DNA-RNA杂交链。那么HsRad52是否参与了这个过程呢？
- 孔老师：“用严格的分子和生化实验去论证吧！”

5. 课程感悟、致谢与参考文献

- (1) 课程感悟
- (2) 致谢
- (3) 参考文献

课程感悟

- 当生物化学遇见生物信息学——以信息为画笔，为略显单调的生化实验描绘绚烂的宏图。
- 从课程之初的生信白痴到课程结束后的生信小白，期间成长了许多。
- 比较糟糕的是，还欠着几份作业没交（并不
- 最后用ABC网站的Alan Bleasby名言作为结语：
“Half day on the web, saves you half month in the lab!”

致谢

- 感谢罗静初教授、孔道春教授、刘思杰博士在报告准备过程中给予的建议与支持。
- 感谢程军同学在无序区预测、沈浩同学在序列分析及PPT制作和修正上给予的帮助。
- 感谢PKU19S_ABC全体同学。
- 感谢大家聆听本次报告！

参考文献

- Conway, A.B., Lynch, T.W., Zhang, Y., Fortin, G.S., Fung, C.W., Symington, L.S., and Rice, P.A. (2004). Crystal structure of a Rad51 filament. *Nat Struct Mol Biol* *11*, 791-796.
- Hustedt, N., and Durocher, D. (2016). The control of DNA repair by the cell cycle. *Nat Cell Biol* *19*, 1-9.
- Jones, D.T. (1999). Protein secondary structure prediction based on position-specific scoring matrices. *J Mol Biol* *292*, 195-202.
- Kowalczykowski, S.C. (2015). An Overview of the Molecular Mechanisms of Recombinational DNA Repair. *Cold Spring Harb Perspect Biol* *7*.
- Krejci, L., Song, B.W., Bussen, W., Rothstein, R., Mortensen, U.H., and Sung, P. (2002). Interaction with Rad51 is indispensable for recombination mediator function of Rad52. *Journal of Biological Chemistry* *277*, 40132-40141.
- Kumar, S., Stecher, G., and Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol Biol Evol* *33*, 1870-1874.
- Mortensen, U.H., Lisby, M., and Rothstein, R. (2009). Rad52. *Curr Biol* *19*, R676-677.
- Krejci, L., Song, B.W., Bussen, W., Rothstein, R., Mortensen, U.H., and Sung, P. (2002). Interaction with Rad51 is indispensable for recombination mediator function of Rad52. *Journal of Biological Chemistry* *277*, 40132-40141.
- San Filippo, J., Sung, P., and Klein, H. (2008). Mechanism of eukaryotic homologous recombination. *Annu Rev Biochem* *77*, 229-257.
- Saotome, M., Saito, K., Yasuda, T., Ohtomo, H., Sugiyama, S., Nishimura, Y., Kurumizaka, H., and Kagawa, W. (2018). Structural Basis of Homology-Directed DNA Repair Mediated by RAD52. *iScience* *3*, 50-62.
- Thorslund, T., and West, S.C. (2007). BRCA2: a universal recombinase regulator. *Oncogene* *26*, 7720-7730.
- Xu, J., Zhao, L., Xu, Y., Zhao, W., Sung, P., and Wang, H.W. (2017). Cryo-EM structures of human RAD51 recombinase filaments during catalysis of DNA-strand exchange. *Nat Struct Mol Biol* *24*, 40-46.