

Bài báo tổng quan

NGHIÊN CỨU TƯƠNG TÁC GIỮA PEPTIDE RHAU VÀ G-QUADRUPLEX ĐỂ PHÁT TRIỂN CÁC PROTEIN CHỨC NĂNG NHẪM VÀO MỤC TIÊU G-QUADRUPLEX

Nguyễn Thị Thu Thảo^{1,2}, Nguyễn Việt Chánh³, Trần Long Huy³,
Nguyễn Ngọc Hạnh³, Đặng Hoàng Nhân³, Ngô Thị Thu Tiên³, Đặng Thị Trúc Giang³,
Ngô Lý Bảo Ngân³, Phan Thị Phương Trang⁴, Đặng Thanh Dũng^{3*}

¹Công ty TNHH Giải pháp Y sinh ABT, Chi nhánh Long Hậu, Việt Nam

²Viện Sinh học Nhiệt đới, Việt Nam

³Trường Đại học Mở Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

⁴Trường 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: 04-3-2024; ngày nhận bài sửa: 24-5-2024; ngày duyệt đăng: 24-5-2024

TÓM TẮT

G-quadruplex (G4) là acid nucleic có cấu trúc bậc hai được hình thành bởi các trình tự giàu guanine. G4 hiện diện phổ biến trong tất cả các bản phiên mã và bộ gen của sinh vật. Cấu trúc G4 liên quan đến các quá trình sinh học của tế bào như: sao chép, phiên mã, dịch mã, và duy trì telomere. Do đó, G4 được xem là phân tử mục tiêu trong việc thiết kế các loại thuốc trúng đích giúp kiểm soát các quá trình sinh học này. Hiện nay, peptide RHAU là một trong những phân tử có khả năng nhận diện và bám đặc hiệu vào cấu trúc G4 song song. Đặc biệt, sự dung hợp giữa peptide RHAU với những proteins chức năng giúp những protein dung hợp này có khả năng bám đặc hiệu vào cấu trúc G4 và thực hiện chức năng sinh học của chúng. Trong bài tổng quan này, chúng tôi thảo luận về những ứng dụng của tương tác đặc hiệu giữa peptide RHAU và G4 song song trong những phản ứng sinh hóa.

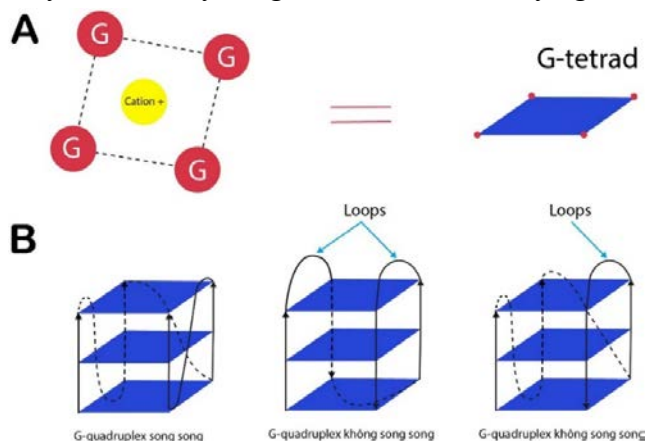
Từ khóa: G-quadruplex; peptide RHAU; RHAU/G-quadruplex; protein dung hợp; phản ứng sinh hóa

1. Giới thiệu

G-quadruplex (G4) là cấu trúc bậc hai của DNA hoặc RNA được hình thành bởi các trình tự giàu guanine (Gellert et al., 1962). Trong đó, bốn guanine liên kết với nhau bởi tương tác Hoogsteen hydrogen dưới sự hiện diện của ion kim loại hóa trị một (Na^+ , K^+) tạo nên cấu trúc G-tetrad (Hình 1A). Hai hay nhiều G-tetrad xếp chồng lên nhau hình thành nên cấu trúc

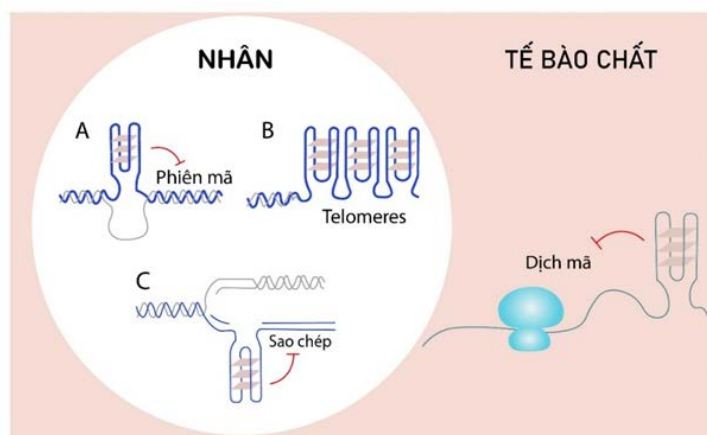
Cite this article as: Nguyen Thi Thu Thao, Nguyen Viet Chanh, Tran Long Huy, Nguyen Ngọc Hạnh, Dang Hoang Nhan, Ngo Thi Thu Tien, Dang Thi Trúc Giang, Ngo Ly Bao Ngan, Phan Thi Phương Trang, & Dang Thanh Dũng (2024). A study on the interaction between rha peptide and G-quadruplex for developing functional proteins that target G-quadruplex. *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science*, 21(5), 827-837.

G4 (Nguyen & Dang, 2023; Simonsson, 2001; Spiegel et al., 2020). G4 có cấu trúc đa hình song song (khi bốn sợi chạy cùng chiều với nhau), không song song (ba sợi chạy cùng chiều và một sợi chạy ngược chiều, hay hai sợi chạy cùng chiều và hai sợi chạy ngược chiều) (Hình 1B).



Hình 1. Cấu trúc của G4. A) Cấu trúc G-tetrad; B) Ba loại cấu trúc G-quadruplex chính

Theo phân tích bằng phần mềm máy tính dự đoán có hơn 700.000 trình tự có thể hình thành cấu trúc G4 trong bộ gen người (Gaur et al., 2023; Spiegel et al., 2020). Sự hình thành cấu trúc G4 ảnh hưởng lớn đến các quá trình sinh học trong tế bào như sao chép, phiên mã, dịch mã hay duy trì các telomere (Hình 2). Có khoảng gần 50% gen người có cấu trúc G4 gần vùng promoter liên quan đến việc điều hòa biểu hiện gen (Dang & Thao, 2018). G4 hiện diện ở vùng telomere có thể ngăn cản sự tương tác của enzyme telomerase với telomere, dẫn đến việc ức chế sự kéo dài của telomere. Sự hình thành của G4 ở các vùng không dịch mã của mRNA (UTR) đã ức chế quá trình dịch mã của RNA. Ngoài ra, G4 có thể hiện diện trong DNA của vi khuẩn hay RNA của virus. Do đó, G4 được xem là phân tử mục tiêu để thiết kế những phân tử thuốc có thể điều hòa các quá trình sinh học này.



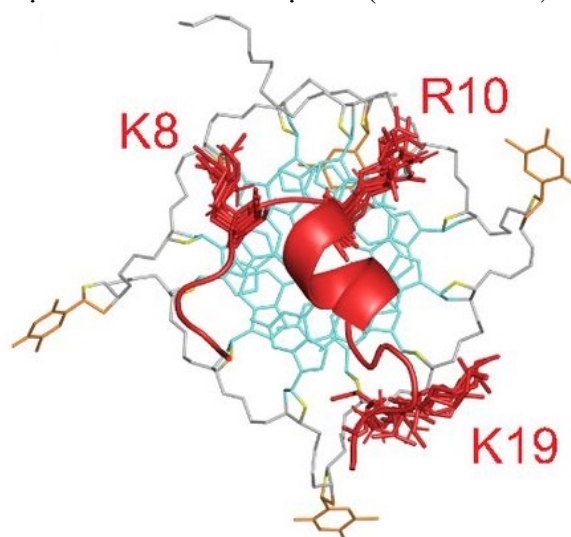
Hình 2. Sự ảnh hưởng của cấu trúc G4 đến các quá trình sinh học: (A) phiên mã, (B) duy trì telomere, (C) sao chép và (D) dịch mã.

Từ những vai trò quan trọng của G4, nhiều phân tử đã được phát triển dưới dạng các phân tử nhỏ (ligand) có khả năng bám vào G4, chẳng hạn như Phen-DC, TMPyP4, BRACO-

19, telometatin... với ưu điểm bao gồm kích thước nhỏ, cấu trúc hóa học rõ ràng, đủ thời gian tồn tại và có khả năng đi vào trong tế bào (Sun et al., 2019). Tuy nhiên, tính đặc hiệu và ái lực thấp đã làm giới hạn những ứng dụng của chúng.

Các nghiên cứu trước đây cho thấy kháng thể có thể nhận biết và bám vào G4 với những ái lực cao, điều này cho phép các kháng thể có thể nhận diện sự hình thành cấu trúc G4 trong tế bào. Tuy nhiên, các kháng thể này có kích thước lớn nên hạn chế trong những ứng dụng sinh hóa. Giải pháp thay thế cho việc nhận biết và bám đặc hiệu vào cấu trúc G4 là sử dụng các protein và peptide. Trong đó, peptide RHAU đã được nghiên cứu có khả năng nhận diện và bám đặc hiệu vào cấu trúc G4 song song trở thành một hướng nghiên cứu đang được quan tâm.

RHAU (RNA Helicase liên kết với thành phần giàu AU), hay còn được gọi là DHX36, là một helicase của người có 1008 axit amin (trọng lượng phân tử 114-kDa) thuộc họ helicase được mã hóa bởi gen *DHX36* (Abdelhaleem et al., 2003). RHAU bao gồm một lõi helicase khoảng 440 axit amin bao gồm tất cả các vùng đặc trưng của họ helicase với các vùng sườn đầu cuối N và C lần lượt khoảng 180 và 380 axit amin. RHAU có hoạt tính tháo xoắn G4 dưới sự hiện diện của ATP (Phan, 2010; Phan et al., 2006). Ngoài ra, RHAU cũng được xác định là nguồn chính cho hoạt động phân giải cấu trúc bậc hai của RNA trong dung dịch tế bào HeLa. Nghiên cứu trước đây cho thấy rằng RHAU liên kết với các mRNA và tạo thành các hạt stress granule (SG) khi có các áp lực môi trường gây ra (Rhodes & Lipps, 2015; Wu & Brosh, 2010). Vùng 105 axit amin đầu tiên đã được chứng minh là rất quan trọng đối với việc liên kết và tái định vị RNA đối với các hạt SG (Wu & Brosh, 2010).



Hình 3. Cơ chế tương tác của phức hợp RHAU18 (màu đỏ) và cấu trúc G4 T95-2T (màu xanh) (Heddi et al., 2015)

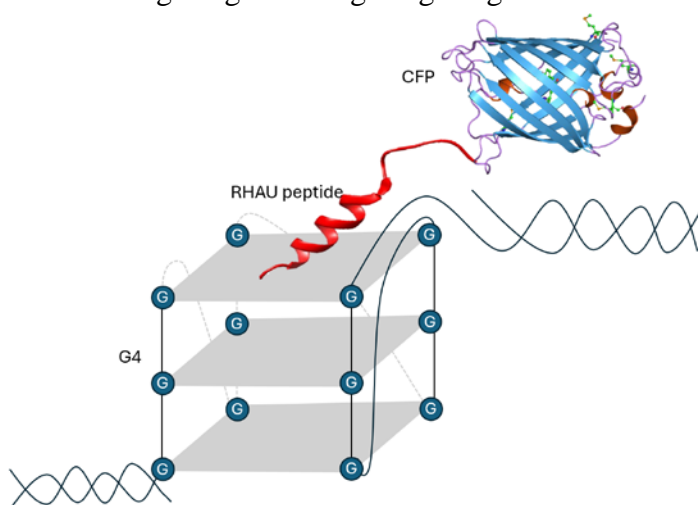
Nghiên cứu gần đây chứng minh vùng N của RHAU protein chứa đoạn RSM có khả năng nhận diện và bám đặc hiệu vào cấu trúc G4 song song (Heddi et al., 2015). Nghiên cứu về sự tương tác giữa RHAU và G4 bằng phương pháp cộng hưởng từ hạt nhân cho thấy phân

từ peptide RHAU nằm trên bề mặt G-tetrad của G4. Cơ chế của sự tương tác thông qua ba axit amin mang điện tích dương của peptide với nhóm photphat mang điện tích âm của G4 (Hình 3). Sự tương tác đặc hiệu này là tiền đề cho việc phát triển các protein chức năng mới có khả năng nhận diện và bám đặc hiệu vào cấu trúc G4.

2. Tương tác giữa peptide RHAU và G4

2.1. Nhận diện cấu trúc G4 bằng phân tử dò protein huỳnh quang

Sự hình thành cấu trúc G4 có vai trò quan trọng trong các quá trình sinh học khác nhau; và việc phát hiện ra những cấu trúc này trong các tế bào được coi là một trong những bước quan trọng để điều hòa các quá trình sinh học này (Di Antonio et al., 2020; Zheng et al., 2020). Việc sử dụng các phân tử để nhận biết và tương tác đặc hiệu cấu trúc G4 đã được nghiên cứu trước đây với một số phương pháp tiếp cận, bao gồm các phân tử nhỏ, peptide và protein (Sun et al., 2019). Gần đây, Dang và Phan đã phát triển phân tử dò huỳnh quang dựa trên peptide RHAU bằng cách dung hợp các peptide RHAU có độ dài và ái lực khác nhau với protein huỳnh quang màu lục lam (CFP) (Dang & Phan, 2016) và protein huỳnh quang màu vàng (YFP) (Truong et al., 2018). Kết quả thu được, các protein dung hợp có thể tương tác đặc hiệu với các G4 với ái lực bám khác nhau, tương ứng với độ dài khác nhau của các peptide RHAU. Và sự nhận diện có thể được phát hiện bằng mắt thường hoặc thiết bị đo huỳnh quang (Hình 4). Bằng cách chọn các điều kiện thích hợp, phương pháp này cũng có thể phân biệt đặc hiệu giữa các G4 song song và không song song.



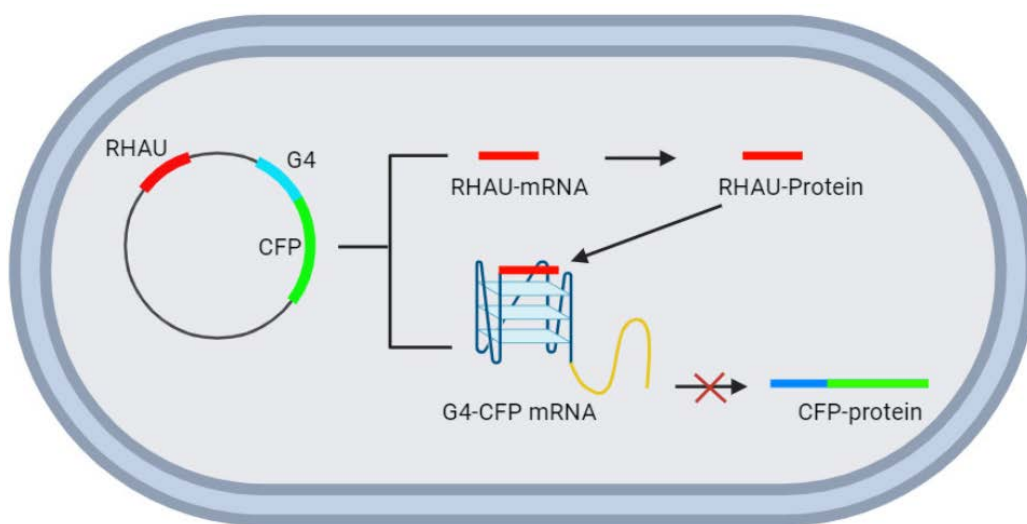
Hình 4. Nhận diện cấu trúc G4 song song bằng phân tử protein dò huỳnh quang RHAU-CFP

2.2. Ổn định cấu trúc G4 bởi peptide RHAU dẫn đến ức chế sự dịch mã

Cấu trúc G4 được tìm thấy khắp nơi trong nhiều sinh vật, và sự hình thành của chúng có liên quan chặt chẽ với các quá trình sinh học (Pany et al., 2019; Patel et al., 2007) (Hình 2). Sự đóng mở của cấu trúc G4 đóng vai trò điều tiết như công tắc bật/tắt để điều khiển các quá trình sinh tổng hợp. Sự không ổn định về cấu trúc G4 có thể dẫn đến tăng hoạt động của telomerase hoặc RNA polymerase dẫn đến ung thư (Patel et al., 2007). Promoter của gen c-

MYC là một trong những trình tự giàu G4 để hình thành cấu trúc G4 đặc trưng nhất, trong đó các cấu trúc G4 tương ứng có thể được ổn định bằng các phân tử nhỏ và peptide, dẫn đến giảm biểu hiện của gen gây ung thư c-MYC (Chen et al., 2014; Dutta et al., 2018; Marzano et al., 2020; Sengupta et al., 2018; Wu et al., 2020). Hiện nay, các ligand (phối tử) của G4, các phân tử vòng tổng hợp hoặc tự nhiên, đã được nghiên cứu giúp ổn định cấu trúc G4. Đặc biệt, các peptide, như peptide dodecameric từ Cathelicidin LL37 protein người (Sengupta et al., 2018), và ϵ -PLL (Marzano et al., 2020) cho thấy có khả năng bám đặc hiệu vào c-MYC G4 giống như các phân tử nhỏ. Nghiên cứu cũng đã cung cấp những hiểu biết sâu sắc về cơ chế phân tử chung của tương tác peptide và G4, cho phép phát triển các peptide thế hệ tiếp theo giúp ổn định G4 với cải tiến chỉ số điều trị và ít tác dụng phụ hơn.

Hiện nay, peptide RHAU đang được nghiên cứu giúp ổn định cấu trúc G4 (Heddi et al., 2015; Meier et al., 2013). Peptide RHAU đã được nghiên cứu có thể bám vào và ổn định cấu trúc G4 song song trong mRNA của protein chỉ thị CFP, dẫn đến ức chế sự biểu hiện của protein CFP trong tế bào *E. Coli* (Hình 5). Ngô và cộng sự gần đây tạo nên peptide RHAU dạng vòng bởi cyclase giúp giảm sự thoái hóa peptide bởi exo-peptidase (Ngo et al., 2020). Đây được coi là cách tiếp cận tiềm năng nhắm vào mục tiêu G4 và ổn định cấu trúc này trong tế bào sống, vì các peptide RHAU dạng vòng bền đối với môi trường peptidase trong tế bào, nhưng vẫn giữ được ái lực cao và tính đặc hiệu đối với các cấu trúc G4 song song.



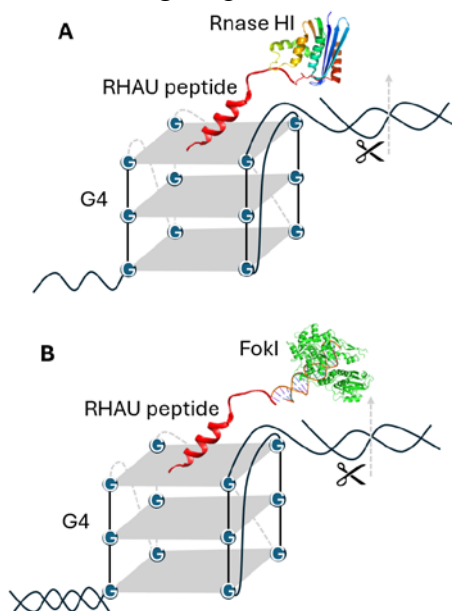
Hình 5. Sơ đồ thể hiện sự ức chế biểu hiện protein bằng tương tác RHAU và G4 trong *E. coli*
2.3. Phát triển các enzyme cắt DNA và RNA

Axit nucleic gồm DNA và RNA là phân tử sinh học trung tâm trong hầu hết các quá trình sinh học (Breaker & Joyce, 2014). Trong đó DNA đóng vai trò là thành phần cấu trúc cho các gen mã hóa. RNA là thành phần quan trọng trong nhiều hoạt động của tế bào, chẳng hạn mRNA mã hóa protein, rRNA thành phần của bộ máy Ribosome và tRNA có chức năng vận chuyển axit amin (Breaker & Joyce, 2014; Cooper et al., 2009; Storz, 2002). Việc nghiên cứu cấu trúc và chức năng của các axit nucleic đoạn dài rất là phức tạp, do đó cần phải phân

thành những đoạn ngắn. Tuy nhiên việc phân thành các đoạn ngắn cần cắt tại các vị trí cụ thể.

DNase, công cụ được sử dụng rộng rãi nhất, bao gồm các enzyme giới hạn loại II phổ biến. Thêm vào đó công nghệ protein tái tổ hợp ngày càng phát triển cho phép tạo ra nhiều enzyme mới có khả năng cắt DNA và RNA ở các vị trí mong muốn. Sự kết hợp của protein liên kết đặc hiệu với DNA/RNA như zinc-finger vào miền xúc tác của RNase HI, tạo ra một protein tái tổ hợp có khả năng cắt chuỗi RNA tại các điểm liên kết của các vị trí liên kết (Sulej et al., 2012). Một phương pháp khác, sự liên kết oligonucleotide-RNase giúp enzyme có khả năng đến và cắt các trình tự mục tiêu bằng cơ chế bắt cặp bổ sung (Walton et al., 2001). Tuy nhiên, chưa có loại enzyme nào có thể nhận biết và cắt cụ thể các đoạn axit nucleic chứa cấu trúc G4.

Dang và Phan đã phát triển một RNase mới (Dang & Phan, 2019) và một DNase mới (Dang et al., 2021), có khả năng cắt RNA và DNA tương ứng, tại các vị trí được xác định trước gần với vùng G4 (Hình 6). Những enzyme này được tạo ra bằng cách dung hợp các peptide RHAU (đóng vai trò nhận diện và bám đặc hiệu vào cấu trúc G4) với các domain xúc tác của RNase HI và FokI. Đặc biệt, peptide RHAU dài 140 axit amin (aa 53-192), đã được chứng minh là có ái lực cao với các G4 ($10\text{ nM} < K_d < 100\text{ nM}$), được dung hợp với RNase HI và FokI. Các protein dung hợp này đã được cảm ứng và biểu hiện trong vi khuẩn *E. coli*. RHAU140-RNA HI và RHAU140-FokI có khả năng nhận diện và bám đặc hiệu cấu trúc G4, dẫn đến việc cắt cơ chất axit nucleic tại các vị trí đặc hiệu mong muốn (Dang et al., 2021; Dang & Phan, 2019). Đây là phương pháp tiềm năng cho việc xác định vị trí hình thành G4 cũng như là việc xác lập bản đồ G4 trong bộ gene.



Hình 6. Các nuclease mới được tạo ra bằng cách dung hợp RHAU với các domain nuclease.

A) RHAU-RNase HI nhận diện G4 và cắt RNA tại vị trí bắt cặp bổ sung RNA/DNA.

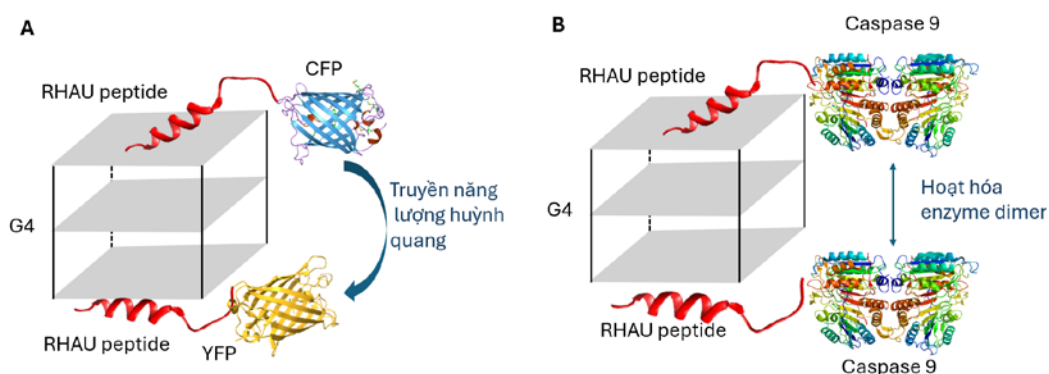
B) RHAU-FokI nhận diện G4 và cắt DNA

2.4. Sự dimer hóa và hoạt hóa enzyme

Trong tế bào, protein rất ít khi hoạt động riêng lẻ ở dạng đơn phân, chúng thường có xu hướng tương tác với nhau để tạo nên dimer, tetramer... nhằm thực hiện chức năng và giúp ổn định cấu trúc (Reddy Chichili et al., 2013). Tương tác protein-protein là những tương tác có tính đặc hiệu cao được tạo thành giữa hai hay nhiều đơn phân protein tương đồng (Homo-oligomers) hoặc không tương đồng (hetero-oligomers). Sự dimer hóa protein có vai trò quan trọng trong các quá trình sinh học, bao gồm phiên mã, dịch mã, sao chép, truyền tín hiệu, hoạt hóa enzyme... (Dang, 2022). Các quá trình sinh học này có thể được kiểm soát nhờ các phân tử có thể cảm ứng sự dimer hóa của protein. Sử dụng các phân tử nhỏ (Rapamycin, Gibberellin...), các kim loại, supramolecules (curcubit[8] uril, cyclodextrin...) có khả năng cảm ứng sự hình thành protein dimer (Dang, 2022). Do đó việc tìm ra một phân tử mới có khả năng cảm ứng sự hình thành protein dimer là cần thiết.

Gần đây cấu trúc G4 được nhận thấy có tiềm năng dimer hóa protein thông qua liên kết đặc hiệu với 2 phân tử protein RHAU. Theo nghiên cứu của Dang và cộng sự 2021, phức hợp dimer hóa đã được tạo thành từ sự tương tác giữa hai protein đơn phân và G4 (Dang et al., 2021). Hai mặt G-tetrad của cấu trúc G4 có khả năng liên kết với peptide RHAU dung hợp cặp protein huỳnh quang màu lục lam (CFP) và protein huỳnh quang màu vàng (YFP). Sự dimer hóa giữa hai protein đã được chứng minh bằng kỹ thuật FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) nhờ hiệu ứng truyền năng lượng cộng hưởng huỳnh quang từ protein cho CFP sang protein nhận YFP (Hình 7A).

Ngoài ra, sự tương tác giữa peptide RHAU và G4 còn được ứng dụng trong việc hoạt hóa enzyme. Trong các nghiên cứu của Dang và cộng sự, caspase 9 là một loại enzyme quan trọng trong quá trình gây chết tế bào. Tuy nhiên enzyme này không có hoạt tính ở trạng thái monomer (Truong et al., 2020). Sự dung hợp enzyme caspase 9 với peptide RHAU cho phép cấu trúc G4 cảm ứng sự dimer hóa của enzyme này dẫn đến hoạt hóa hoạt tính của enzyme (Hình 7B). Phương pháp này có tiềm năng trong việc cảm ứng sự dimer và kích hoạt các hoạt tính của enzyme khác nhau trong tế bào.



Hình 7. Sơ đồ về sự dimer hóa và hoạt hóa enzyme. A) Cảm ứng sự dimer của protein dung hợp RHAU-CFP và RHAU-YFP bởi G4, sự dimer của hai protein này dẫn đến việc truyền tín hiệu FRET từ protein cho CFP sang protein nhận YFP. B) Cảm ứng sự dimer enzyme RHAU-Caspase 9 bởi G4, dẫn đến việc hoạt hóa enzyme

Cấu trúc G4 được phát hiện phổ biến trong nhiều sinh vật, từ virus, vi khuẩn, thực vật đến động vật và con người. Sự hình thành của các cấu trúc này có mối liên hệ chặt chẽ với các quá trình sinh học quan trọng. Do đó hiện nay, xu hướng nghiên cứu ngày càng tập trung vào tác động của G4 và việc phát triển các loại thuốc đặc hiệu nhằm ức chế sự phát triển của một số mầm bệnh như Covid-19, ung thư phổi... Ngoài ra, việc làm sáng tỏ mối liên hệ giữa G4 và các biến thể nucleotide đơn liên quan đến ung thư (cSNV) cho thấy tiềm năng nghiên cứu các loại thuốc trúng đích trong lâm sàng để điều trị ung thư.

3. Kết luận

Sự nhận diện đặc hiệu cấu trúc G4 song song bởi peptide RHAU tạo nên phương pháp hữu hiệu cho sự nhận biết, kiểm soát cũng như là thiết kế những phân tử thuốc đặc hiệu nhằm vào cấu trúc này. Việc dung hợp peptide RHAU với những protein chức năng cho phép protein tái tổ hợp mới này có khả năng bám đặc hiệu vào mục tiêu G4 và thực hiện chức năng sinh học mong muốn. Đây có thể được xem như là một giải pháp tiềm năng ứng dụng trong các quá trình sinh học liên quan đến mục tiêu G4 ứng dụng trong y sinh.

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

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abdelhaleem, M., Maltais, L., & Wain, H. (2003). The human DDX and DHX gene families of putative RNA helicases. *Genomics*, 81(6), 618-622. [https://doi.org/10.1016/s0888-7543\(03\)00049-1](https://doi.org/10.1016/s0888-7543(03)00049-1)
- Breaker, R. R., & Joyce, G. F. (2014). The expanding view of RNA and DNA function. *Chem Biol*, 21(9), 1059-1065. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2014.07.008>
- Chen, B. J., Wu, Y. L., Tanaka, Y., & Zhang, W. (2014). Small molecules targeting c-Myc oncogene: promising anti-cancer therapeutics. *Int J Biol Sci*, 10(10), 1084-1096.
- Cooper, T. A., Wan, L., & Dreyfuss, G. (2009). RNA and disease. *Cell*, 136(4), 777-793. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.02.011>
- Dang, D. T. (2022). Molecular Approaches to Protein Dimerization: Opportunities for Supramolecular Chemistry. *Front Chem*, 10, Article 829312. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.829312>
- 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. <https://doi.org/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. <https://doi.org/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), Article 7432. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42143-8>

- Dang, D. T., Thao, N. T. T. (2018). G-quadruplex: Mục tiêu tiềm năng cho những phân tử nhỏ và protein trong việc tạo thuốc trị ung thư. [G-quadruplex: A potential target for small molecules and proteins in anti-cancer drug investigation]. *Ho Chi Minh City Open University Journal of Science*, 13(1), 81-92.
- Di Antonio, M., Ponjavic, A., Radzevicius, A., Ranasinghe, R. T., Catalano, M., Zhang, X., Shen J, Needham, L. M., Lee, S. F., Klenerman, D., & Balasubramanian S. (2020). Single-molecule visualization of DNA G-quadruplex formation in live cells. *Nat Chem*, 12(9), 832-837. <https://doi.org/10.1038/s41557-020-0506-4>
- Dutta, D., Debnath, M., Müller, D., Paul, R., Das, T., Bessi, I., Schwalbe, H., & Dash, J. (2018). Cell penetrating thiazole peptides inhibit c-MYC expression via site-specific targeting of c-MYC G-quadruplex. *Nucleic acids research*, 46(11), 5355-5365.
- Gaur, P., Bain, F. E., Honda, M., Granger, S. L., & Spies, M. (2023). Single-Molecule Analysis of the Improved Variants of the G-Quadruplex Recognition Protein G4P. *Int J Mol Sci*, 24(12). <https://doi.org/10.3390/ijms241210274>
- Gellert, M., Lipsett, M. N., & Davies, D. R. (1962). Helix formation by guanylic acid. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 48(12), 2013-2018. <https://doi.org/10.1073/pnas.48.12.2013>
- 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. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 112(31), 9608-9613. <https://doi.org/10.1073/pnas.1422605112>
- Marzano, M., Falanga, A. P., Marasco, D., Borbone, N., D'Errico, S., Piccialli, G., Roviello, G. N., & Oliviero, G. (2020). Evaluation of an Analogue of the Marine ϵ -PLL Peptide as a Ligand of G-quadruplex DNA Structures. *Marine drugs*, 18(1), Article 49. <https://doi.org/10.3390/md18010049>
- Meier, M., Patel, T. R., Booy, E. P., Marushchak, O., Okun, N., Deo, S., Howard, R., McEleney, K., Harding, S. E., Stetefeld, J., & McKenna, S. A. (2013). Binding of G-quadruplexes to the N-terminal recognition domain of the RNA helicase associated with AU-rich element (RHAU). *The Journal of biological chemistry*, 288(49), 35014-35027.
- Ngo, K. H., Yang, R., Das, P., Nguyen, G. K. T., Lim, K. W., Tam, J. P., Wu, B., & Phan, A. T. (2020). Cyclization of a G4-specific peptide enhances its stability and G-quadruplex binding affinity. *Chemical Commun*, 56(7), 1082-1084. <https://doi.org/10.1039/c9cc06748e>
- Nguyen, L. T. A., & Dang, D. T. (2023). RHAU Peptides Specific for Parallel G-Quadruplexes: Potential Applications in Chemical Biology. *Mol Biotechnol*, 65(3), 291-299. <https://doi.org/10.1007/s12033-022-00552-7>
- Pany, S. P. P., Sapra, M., Sharma, J., Dhamodharan, V., Patankar, S., & Pradeepkumar, P. I. (2019). Presence of Potential G-Quadruplex RNA-Forming Motifs at the 5'-UTR of PP2A α mRNA Repress Translation. *Chembiochem*, 20(23), 2955-2960. <https://doi.org/10.1002/cbic.201900336>
- Patel, D. J., Phan, A. T., & Kuryavyi, V. (2007). Human telomere, oncogenic promoter and 5'-UTR G-quadruplexes: diverse higher order DNA and RNA targets for cancer therapeutics. *Nucleic Acids Res*, 35(22), 7429-7455. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm711>
- Phan, A. T. (2010). Human telomeric G-quadruplex: structures of DNA and RNA sequences. *FEBS J*, 277(5), 1107-1117.

- Phan, A. T., Kuryavyi, V., & Patel, D. J. (2006). DNA architecture: from G to Z. *Curr Opin Struct Biol*, 16(3), 288-298.
- Reddy Chichili, V. P., Kumar, V., & Sivaraman, J. (2013). Linkers in the structural biology of protein-protein interactions. *Protein Sci*, 22(2), 153-167. <https://doi.org/10.1002/pro.2206>
- Rhodes, D., & Lipps, H. J. (2015). G-quadruplexes and their regulatory roles in biology. *Nucleic Acids Res*, 43(18), 8627-8637.
- Sengupta, P., Banerjee, N., Roychowdhury, T., Dutta, A., Chattopadhyay, S., & Chatterjee, S. (2018). Site-specific amino acid substitution in dodecameric peptides determines the stability and unfolding of c-MYC quadruplex promoting apoptosis in cancer cells. *Nucleic Acids Res*, 46(19), 9932-9950. <https://doi.org/10.1093/nar/gky824>
- Simonsson, T. (2001). G-quadruplex DNA structures--variations on a theme. *Biol Chem*, 382(4), 621-628. doi:10.1515/BC.2001.073
- Spiegel, J., Adhikari, S., & Balasubramanian, S. (2020). The Structure and Function of DNA G-Quadruplexes. *Trends Chem*, 2(2), 123-136. <https://doi.org/10.1016/j.trechm.2019.07.002>
- Storz, G. (2002). An expanding universe of noncoding RNAs. *Science*, 296(5571), 1260-1263. <https://doi.org/10.1126/science.1072249>
- Sulej, A. A., Tuszynska, I., Skowronek, K. J., Nowotny, M., & Bujnicki, J. M. (2012). Sequence-specific cleavage of the RNA strand in DNA-RNA hybrids by the fusion of ribonuclease H with a zinc finger. *Nucleic Acids Res*, 40(22), 11563-11570. <https://doi.org/10.1093/nar/gks885>
- Sun, Z. Y., Wang, X. N., Cheng, S. Q., Su, X. X., & Ou, T. M. (2019). Developing Novel G-Quadruplex Ligands: from Interaction with Nucleic Acids to Interfering with Nucleic Acid(-)Protein Interaction. *Molecules*, 24(3), Article 396. <https://doi.org/10.3390/molecules24030396>
- Truong, T. T. T., Cao, C., & Dang, D. T. (2020). Parallel G-quadruplex-mediated protein dimerization and activation. *RSC Adv*, 10(50), 29957-29960. <https://doi.org/10.1039/d0ra06173e>
- Truong, T. T. T., Phan, T. P. T., Le, T. R. L., Nguyen, H. D., Nguyen, D. H., & Dang, D. T. (2018). Engineering yellow fluorescent protein probe for visualization of parallel DNA G-quadruplex. *Science and Technology Development Journal*, 21(3-4), 84-89.
- Walton, C. M., Wu, C. H., & Wu, G. Y. (2001). A ribonuclease H-oligo DNA conjugate that specifically cleaves hepatitis B viral messenger RNA. *Bioconjug Chem*, 12(5), 770-775. <https://doi.org/10.1021/bc010018e>
- Wu, T. Y., Huang, Q., Huang, Z. S., Hu, M. H., & Tan, J. H. (2020). A drug-like imidazole-benzothiazole conjugate inhibits malignant melanoma by stabilizing the c-MYC G-quadruplex. *Bioorg Chem*, 99, Article 103866. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103866>
- Wu, Y., & Brosh, R. M., Jr. (2010). G-quadruplex nucleic acids and human disease. *FEBS J*, 277(17), 3470-3488. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2010.07760.x>
- Zheng, K. W., Zhang, J. Y., He, Y. D., Gong, J. Y., Wen, C. J., Chen, J. N., Hao, Y. H., Zhao, Y., & Tan, Z. (2020). Detection of genomic G-quadruplexes in living cells using a small artificial protein. *Nucleic acids research*, 48(20), 11706-11720. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa841>

A STUDY ON THE INTERACTION BETWEEN RHAU PEPTIDE AND G-QUADRUPLEX FOR DEVELOPING FUNCTIONAL PROTEINS THAT TARGET G-QUADRUPLEX

Nguyen Thi Thu Thao^{1,2}, *Nguyen Viet Chanh*³, *Tran Long Huy*³,
*Nguyen Ngoc Hanh*³, *Dang Hoang Nhan*³, *Ngo Thi Thu Tien*³, *Dang Thi Truc Giang*³,
*Ngo Ly Bao Ngan*³, *Phan Thi Phuong Trang*⁴, *Dang Thanh Dung*^{3*}

¹*ABT Biological Solutions Company Limited, Long Hau branch, Vietnam*

²*Institute of Tropical Biology, VAST, Vietnam*

³*Ho Chi Minh City Open University, Vietnam*

⁴*University of Science, Vietnam National University Ho Chi Minh City, Vietnam*

**Corresponding author: Dang Thanh Dung – Email: dung.dthanh@ou.edu.vn*

Received: March 04, 2024; Revised: May 24, 2024; Accepted: May 24, 2024

ABSTRACT

G-quadruplex (G4) is a secondary structure of acid nucleic which is formed in Guanine-rich sequence. The formation of the G4 structure involves many cellular biological processes such as replication, transcription, translation, and maintenance of telomeres. Therefore, the G4 has been considered a target molecule for the design of drug that can control these biological processes. Currently, RHAU peptide has emerged as a molecule that can specifically recognize and bind to a parallel G4 structure. In particular, the fusion of RHAU peptides with functional protein domains can target the G4 structure and play their biological functions. In this review, we discuss the applications of specific interactions between RHAU peptides and parallel G4 in biochemical processes.

Keywords: G-quadruplex; peptide RHAU; RHAU/G-quadruplex interaction; fusion protein, biochemical process