

## Đánh giá khả năng nhận diện cấu trúc DNA G-Quadruplex song song của phân tử RHAU140-CFP bằng thiết bị đo huỳnh quang

### Evaluating RHAU140-CFP molecule for specific recognition of parallel DNA G-Quadruplex by the fluorescence spectrophotometer

Trương Thị Tinh Tuôm<sup>2,3</sup>, Nguyễn Việt Chánh<sup>1</sup>, Phan Thị Phương Trang<sup>2,3</sup>, Đặng Thanh Dũng<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Mở Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>3</sup>Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

\*Tác giả liên hệ, Email: dung.dthanh@ou.edu.vn

#### THÔNG TIN

#### TÓM TẮT

DOI:10.46223/HCMCOUJS.  
tech.vi.18.2.2661.2023

Ngày nhận: 21/02/2023

Ngày nhận lại: 03/04/2023

Duyệt đăng: 14/04/2023

Xác định sự hình thành cấu trúc G-quadruplex trong DNA là cần thiết để thiết kế các phân tử nhỏ (thuốc) nhắm mục tiêu G-quadruplex. Nghiên cứu trước đây, chúng tôi đã sử dụng protein huỳnh quang RHAU53-CFP có khả năng nhận diện cấu trúc G-quadruplex song song thông qua tín hiệu huỳnh quang. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá khả năng nhận diện đặc hiệu cấu trúc DNA G-quadruplex song song của RHAU140-CFP bằng thiết bị đo huỳnh quang. Kết quả cho thấy, phân tử protein huỳnh quang có khả năng nhận diện cấu trúc G-quadruplex song song. Ngoài ra, tín hiệu huỳnh quang cho thấy độ nhạy của protein RHAU140-CFP cao gấp 03 lần so với tín hiệu huỳnh quang của RHAU53-CFP trong việc xác định sự hình thành cấu trúc G-quadruplex song song. Độ nhạy phân tử protein huỳnh quang sẽ cung cấp một công cụ tiềm năng để phát hiện G-quadruplex song song cả *in vitro* và *in vivo*.

#### ABSTRACT

*Từ khóa:*

DNA; G-quadruplex song song;  
sự đặc hiệu; RHAU53-CFP;  
RHAU140-CFP

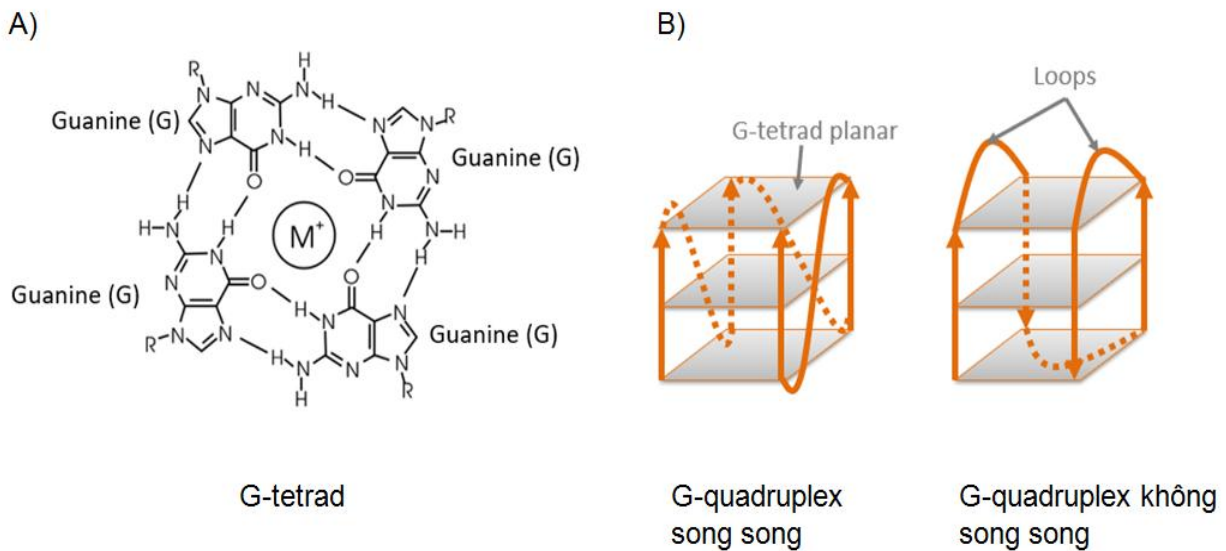
*Keywords:*

DNA; parallel G-quadruplex;  
specificity; RHAU53-CFP;  
RHAU140-CFP

Determination of G-quadruplex formation in DNA is required for the design of small molecules (drugs) targeting G-quadruplex. In previous studies, we used the fluorescent protein RHAU53-CFP capable of recognizing parallel G-quadruplex structures through a fluorescent signal. Herein, we evaluated the ability to specifically recognize the parallel G-quadruplex DNA structure of RHAU140-CFP by fluorescence spectrophotometer. The results showed that the fluorescent protein probe was able to recognize the parallel G-quadruplex structure. In addition, the fluorescence signal showed that the sensitivity of the RHAU140-CFP protein was three times higher than that of the RHAU53-CFP fluorescent signal in determining the formation of a G-quadruplex structure. Fluorescence protein probe sensitivity would provide a potential tool for the detection of parallel G-quadruplex both *in vitro* and *in vivo*.

## 1. Giới thiệu

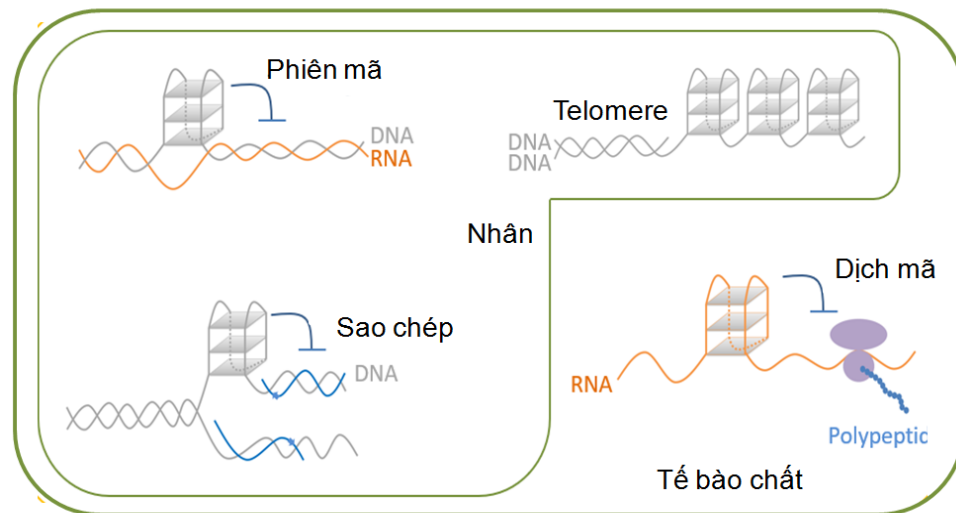
DNA hay RNA G-quadruplex là cấu trúc bậc hai được hình thành từ trình tự giàu G có thể gấp lại thành bốn sợi cấu trúc trong cùng chuỗi đơn (Hình 1) (Gellert, Lipsett, & Davies, 1962; Sen & Gilbert, 1988). Các cấu trúc G-quadruplex có tính đa hình cao: Bốn sợi của lõi G-tetrad có thể song song (các sợi được định hướng theo cùng một hướng) hoặc không song song với (i) ba sợi theo một hướng và một sợi theo một hướng khác hoặc (ii) hai sợi theo một hướng và hai sợi còn lại theo hướng ngược lại (Burge, Parkinson, Hazel, Todd, & Neidle, 2006) (Hình 1). Dự đoán bằng phần mềm trên máy tính cho thấy bộ gen người có thể chứa hơn 700,000 trình tự có thể hình thành cấu trúc G-quadruplex (Burge & ctg., 2006; Lipps & Rhodes, 2009; Maizels & Gray, 2013). G-quadruplex chủ yếu hiện diện trong vùng telomere của bộ gen, trong đó bao gồm 05 đến 10,000bp lặp lại giàu G (TTAGGG). G-quadruplex còn tồn tại trong promoter nơi khởi đầu phiên mã của gen. G-quadruplex cũng đã được tìm thấy trong vùng 5'-UTR của các mRNA được mã hóa (Kwok, Ding, Shahid, Assmann, & Bevilacqua, 2015). Ngoài ra, G-quadruplex cũng tồn tại ở các loài vi khuẩn, nấm hay virus.



**Hình 1.** A) Cấu trúc G-tetrad được hình thành trong DNA hay RNA với sự có mặt của cation  $K^+$  hoặc  $Na^+$ . B) G-quadruplex với các cấu trúc liên kết khác nhau: song song và không song song

Nguồn: Nguyen và Dang (2023)

Sự hình thành G-quadruplex đóng một vai trò quan trọng trong nhiều quá trình sinh học như sao chép, phiên mã, dịch mã và duy trì telomere (Kim & Yadav, 2015; Maizels, 2015; Rhodes & Lipps, 2015; Simone, Fratta, Neidle, Parkinson, & Isaacs, 2015) (Hình 2). Trong quá trình sao chép, khi tách mạch các trình tự giàu G sợi đơn có khả năng hình thành G-quadruplex, điều này làm ức chế quá trình sao chép, dẫn đến sự mất ổn định của bộ gen. Trong nhiễm sắc thể người, sợi đơn 3' nhô ra của telomere (khoảng 100 đến 280nt) thuận lợi để hình thành G-quadruplex và có thể ức chế hoạt động của telomerase, làm cho telomere không thể kéo dài ra (Burge & ctg., 2006; Kerwin & ctg., 2000). Do đó, sự hiện diện cấu trúc G-quadruplex trong bộ gen của con người được coi là mục tiêu phân tử mới cho việc nghiên cứu phương pháp điều trị ung thư (Burge & ctg., 2006; Kerwin & ctg., 2000; Maizels, 2015; Morris & Mattick, 2014).



**Hình 2.** Sự hình thành cấu trúc G-quadruplex trong tế bào ức chế các quá trình như: Sao chép, phiên mã, dịch mã và kéo dài telomere

Nguồn: Nguyen và Dang (2023)

Xác định sự hình thành cấu trúc G-quadruplex trong DNA là vô cùng cần thiết cho việc thiết kế các phân tử nhỏ (thuốc) nhằm mục tiêu G-quadruplex. Các đầu dò phân tử nhỏ đã được phát triển để phát hiện G-quadruplex như bisquinolinium/thiazole cam và dimer 6,8 purine có cầu nối acetylene (Nikan, Di Antonio, Abecassis, McLuckie, & Balasubramanian, 2013). Những phân tử này có thể phát tín hiệu huỳnh quang khi được liên kết với G-quadruplex. Gần đây, việc xác định cấu trúc G-quadruplex bằng protein cũng đã được chú ý. Ví dụ, sử dụng kháng thể nhận biết và liên kết có chọn lọc với G-quadruplex có ái lực cao cho phép xác định vị trí của G-quadruplex trong telomere của bộ gen (Biffi, Di Antonio, Tannahill, & Balasubramanian, 2014). Ngoài ra, protein RHAU dài 1,008aa đã được chứng minh có khả năng nhận diện và bám đặc hiệu lên G-quadruplex với ái lực cao nhờ vào vùng RSM chứa 13aa (từ vị trí aa 54-66) (Dang & Phan, 2016; Nguyen & Dang, 2023). Tuy nhiên, kích thước này quá lớn nên các nghiên cứu chỉ sử dụng đoạn peptide RHAU mang vùng trình tự nhận biết RSM mà thông thường là RHAU23 (53-75), RHAU53 (53-105), RHAU140 (53-192). Đoạn peptide ngắn có ưu điểm nhỏ gọn và dễ dàng dung hợp với các đối tượng mục tiêu nhưng lại có ái lực bám yếu. Trước đây, chúng tôi đã phát triển các đầu dò protein huỳnh quang màu lục lam RHAU53-CFP có thể nhận diện và phân biệt cấu trúc G-quadruplex bao gồm cấu trúc song song và không song song (Dang & Phan, 2016; Nguyen & Dang, 2023) nhưng độ nhạy không cao. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành khảo sát độ nhạy của tín hiệu huỳnh quang bằng việc sử dụng protein RHAU140-CFP trong việc xác định sự hình thành cấu trúc G-quadruplex song song bởi vì RHAU140 có ái lực với G-quadruplex cao hơn RHAU53- có thể áp dụng khi nồng độ chất mục tiêu thấp hoặc nồng độ protein để phát không cao. Độ nhạy của đầu dò protein huỳnh quang có ý nghĩa quan trọng trong việc xác định sự hình thành cấu trúc G-quadruplex trong cả *in vitro* và *in vivo*.

## 2. Vật liệu và phương pháp

### 2.1. Dòng hóa plasmid chứa gen mã hóa protein RHAU140-CFP

Đầu dò protein huỳnh quang được tạo ra bằng cách dung hợp protein huỳnh quang CFP (cyan fluorescent protein) với peptide RHAU140. DNA mã hóa cho RHAU140 được nhân lên bằng kỹ thuật PCR sử dụng mạch khuôn từ plasmid chứa RHAU với cặp mồi ON1: 5'-gcgtggatccgctccatgcatcccgggcacctgaaag-3' và ON2: 5'-ggcatatggctgccgccgctgtttttctttttaaattcctaataa-3'. Sản phẩm PCR được xử lý với 2 enzyme cắt giới hạn *Bam*HI/*Nde*I, và được chèn vào vector

khung sườn pET-duet1 chứa protein huỳnh quang CFP cũng đã được xử lý với cùng 02 enzyme cắt giới hạn trên để tạo ra sản phẩm nối là vector pRHAU140-CFP chứa gen mã hóa cho protein RHAU140-CFP. Biến nạp sản phẩm nối vào chủng *E. coli* DH5 $\alpha$  và sàng lọc trên môi trường LB có bổ sung 100 $\mu$ g kháng sinh Ampicillin. Chọn những khuẩn lạc mang hình thái đặc trưng cho *E. coli* để PCR khuẩn lạc với cặp mồi ON30: 5'-ggtgatgtcggcgatatagg-3' và ON2, trong đó ON30 nằm trên plasmid khung sườn phía trước promoter T7 và ON2 nằm trên gen nhằm xác định chiều chèn vào của gen mục tiêu. Khuẩn lạc cho kết quả PCR khuẩn lạc dương tính sẽ được nuôi cấy, tách chiết và giải trình tự bằng phương pháp Sanger.

## 2.2. Biểu hiện và tinh chế protein

Plasmid pRHAU140-CFP được biến nạp vào chủng biểu hiện *E. coli* BL21 (DE3). Vi khuẩn được nuôi cấy trong môi trường LB chứa 100 $\mu$ g ampicillin ở 37°C, lắc 200 vòng/phút. Khi mật độ tế bào đạt đến giá trị OD<sub>600</sub> là 0.5 - 1.0 thì chất cảm ứng IPTG được thêm vào để đạt nồng độ cuối cùng là 0.3mM. Nuôi cấy lắc với tốc độ 250 vòng/phút ở 16°C qua đêm. Sinh khối tế bào được huyền phù với tỉ lệ 1:3 vào dung dịch đệm ly giải gồm 20  $\mu$ g/ml Dnase I và 01mM PMSF. Phá vỡ tế bào bằng sóng siêu âm với amplitude là 70, 12 chu kì gồm thời gian bắn 05 giây và nghỉ 25 giây. Ly tâm ở 20,000 vòng/phút trong 01 giờ ở 04°C. Pha hòa tan được nạp vào cột HisTrap 01ml đã được cân bằng thông qua dòng trọng lực với tốc độ dòng chảy 01 ml/phút. Rửa với 20 lần thể tích cột bằng dung dịch 20mM Na-Pi, NaCl 100mM và imidazole 10mM. Sau đó, protein được ly giải bằng dung dịch đệm 20mM Na-Pi, 100mM NaCl và 150mM imidazole. Loại bỏ imidazole trong protein sau tinh chế bằng cách sử dụng bộ lọc ly tâm Amicon Ultra-15 (Milipore). Protein được phân tích độ tinh sạch bằng cách chạy SDS-PAGE 12%.

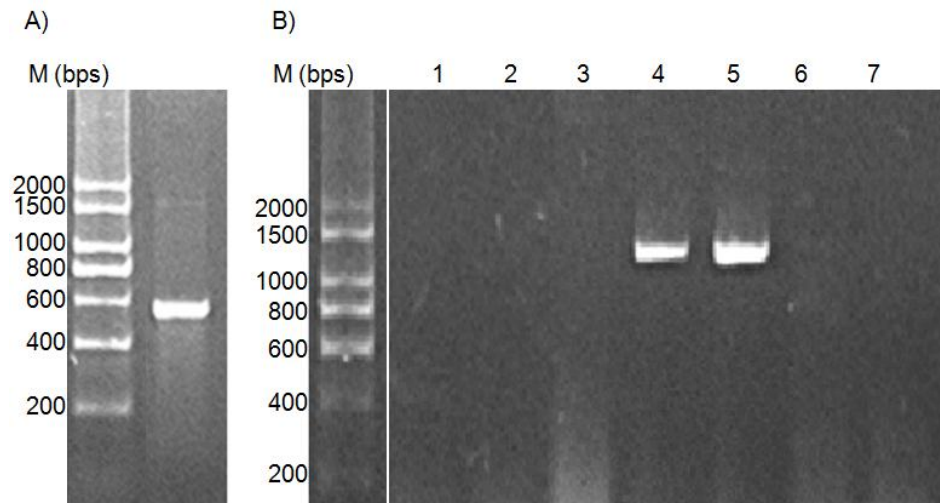
## 2.3. Nhận diện G-quadruplex song song bằng đầu dò protein huỳnh quang

Hai G-quadruplex song song (T95-2T: TTGGGTGGGTGGGTGGGT) và G-quadruplex không song song (Htelo: TAGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTT) đều được tổng hợp hóa học có gắn với đuôi biotin. Những phân tử này được gắn vào hạt agarose NeutraAvidin thông qua tương tác đặc hiệu giữa biotin và protein NeutraAvidin. Sau đó, các hạt này được ủ với đầu dò protein huỳnh quang. Ngoài ra, các hạt (không có DNA đính kèm) cũng được ủ với đầu dò protein huỳnh quang làm đối chứng âm. Sau đó, mẫu sẽ được rửa bằng dung dịch đệm để loại những protein không bám. Phân tích khả năng nhận diện G-quadruplex song song thông qua thiết bị đo huỳnh quang với bước sóng kích thích 410nm và bước sóng phát ra 475nm.

## 3. Kết quả và thảo luận

### 3.1. Dòng hóa plasmid pRHAU140-CFP

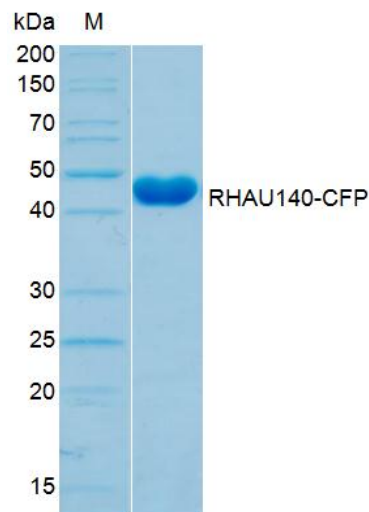
Đoạn gen *RHAU140* được khuếch đại bằng PCR bằng cặp mồi đặc hiệu ON1 và ON2 với các vị trí cắt enzyme cắt bổ sung *Bam*HI và *Nde*I (ở mồi ON2). Sản phẩm PCR được phân tích bằng điện di trên gel với 2% agarose cho thấy một vạch sáng duy nhất nằm giữa 02 vạch 400bp và 600bp của thang DNA (Hình 3A), tương ứng với kích thước lý thuyết của đoạn gen *RHAU140* là 460bp. Điều đó cho thấy đã thu nhận thành công đoạn gen mục tiêu. Sản phẩm PCR được nối vào plasmid pETduet1-CFP tại vị trí *Bam*HI và *Nde*I. Chủng *E. coli* DH5 $\alpha$  mang plasmid tái tổ hợp mục được trên môi trường chứa kháng sinh Ampicillin được kiểm tra bằng PCR khuẩn lạc. Kết quả điện di cho thấy, từ 07 khuẩn lạc được chọn làm khuôn cho PCR có 02 khuẩn lạc xuất hiện vạch sáng ở giữa vạch 1,000bps và 1,500bps của thang DNA, tương ứng với kích thước thiết kế theo lý thuyết 1,430bps (Hình 3B). Plasmid từ khuẩn lạc số 05 sau đó được kiểm tra bằng giải trình tự bởi công ty 1<sup>st</sup> Base (Singapore). Kết quả giải trình tự cho thấy độ tương đồng 100% với trình tự lý thuyết (dữ liệu không được hiển thị) cho thấy vector tái tổ hợp pRHAU140-CFP mang gen mục tiêu *RHAU140-CFP*.



**Hình 3.** Điện di trên gel aragose 2%. A) Sản phẩm PCR của gen mục tiêu *RHAU140* (460bps). B) Sản phẩm PCR khuẩn lạc (1,430bps) từ 07 khuẩn lạc ngẫu nhiên trên đĩa nuôi cấy, M (thang DNA)

### 3.2. Biểu hiện và tinh chế protein *RHAU140*-CFP

Protein *RHAU140*-CFP sau đó được biểu hiện trong chủng *E.coli* BL21 (DE3) dưới sự cảm ứng của 0.3mM IPTG. Protein sau đó được tinh chế bằng cột HisTrap 01ml và được phân tích độ tinh sạch bằng điện di gel SDS-PAGE. Kết quả điện di cho thấy vạch protein mục tiêu di chuyển giữa khoảng 40 và 50kDa của thang protein chuẩn, tương ứng với giá trị của protein mục tiêu là 46.5kDa (Hình 4). Phân tích độ tinh sạch của protein bằng phần mềm AlphaEase cho thấy protein thu được có độ tinh sạch khoảng 95%.



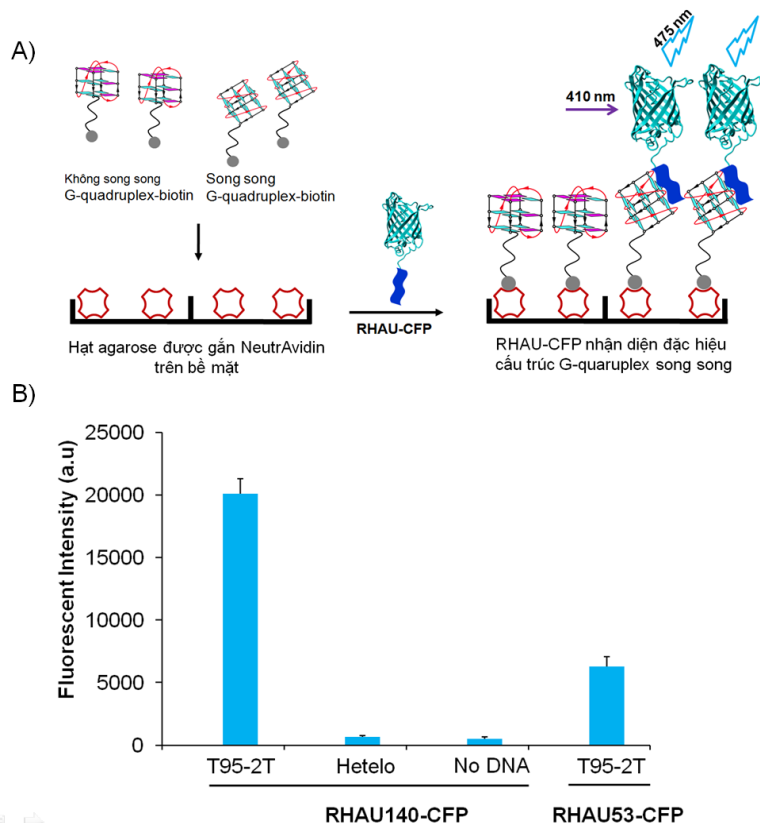
**Hình 4.** Phân tích độ tinh sạch protein *RHAU140*-CFP bằng điện di SDS-PAGE. Lane 1: thang chuẩn, lane 2: *RHAU140*-CFP

### 3.3. Nhận diện *G*-quadruplex song song bằng phân tử dò protein huỳnh quang

Các hạt NeutrAvidin được gắn *G*-quadruplex song song và không song song được ủ với *RHAU53*-CFP và *RHAU140*-CFP trong đĩa 96 giếng theo mô hình ở Hình 5A. Mẫu đối chứng âm là hạt agarose NeutrAvidin không có gắn DNA cũng được ủ với *RHAU140*-CFP. Kết quả được phân tích bằng thiết bị đọc huỳnh quang ở bước sóng kích thích 410nm và bước sóng hấp thụ 475nm (Hình 5B). Kết quả đúng như dự đoán, sau khi rửa giếng bằng dung dịch đệm, các hạt bao gồm *G*-quadruplex song song hiển thị tín hiệu huỳnh quang mạnh gấp 15 lần so với các hạt

gồm G-quadruplex không song song và đối chứng không chứa DNA (Hình 5B). Ngoài ra, độ nhạy của protein huỳnh quang RHAU140-CFP cao gấp 3.0 lần so với độ nhạy của protein RHAU53-CFP trong việc nhận diện cấu trúc G-quadruplex song song.

Như vậy, G-quadruplex song song cũng cho phép RHAU140 peptide nhận diện và bám đặc hiệu cấu trúc này. Bên cạnh đó, việc nghiên cứu cơ chế bám đặc hiệu của RHAU peptide và G-quadruplex bằng kỹ thuật cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) cho thấy RHAU peptide bám trên bề mặt G-tetrad của G-quadruplex thông qua các tương tác điện tử giữa các amino acid mang điện tích dương của peptide và nhóm phosphate mang điện tích âm của G-quadruplex song song. Riêng G-quadruplex không song song do trên bề mặt G-tetrad có những đường nhánh (loop) đã làm ngăn cản sự bám vào trên bề mặt của RHAU peptide. Do đó, RHAU peptide chỉ nhận diện và bám đặc hiệu vào cấu trúc G-quadruplex song song. Tuy nhiên, chiều dài của RHAU peptide khác nhau cho ái lực bám đặc hiệu vào cấu trúc G-quadruplex khác nhau. RHAU140 (gồm có 140 amino acid) có ái lực bám cao gấp khoảng 03 lần so với RHAU53 (gồm có 53 amino acid). Vì vậy, dung hợp RHAU140 với protein huỳnh quang CFP tạo nên phân tử dò protein huỳnh quang RHAU140-CFP có độ nhạy cao hơn so với RHAU53-CFP trong việc nhận diện đặc hiệu cấu trúc G-quadruplex song song.



**Hình 5.** Nhận diện cấu trúc G-quadruplex bằng phân tử dò protein huỳnh quang.

A) Mô hình quy trình nhận diện và phân biệt cấu trúc G-quadruplex song song và không song song bởi phân tử dò protein huỳnh quang. G-quadruplex có biotin (màu xám) được bám vào hạt gel NeutrAvidin để tạo thành phức hợp biotin-G-quadruplex/NeutrAvidin. Phân tử dò protein huỳnh quang RHAU-CFP sẽ chọn lọc và bám vào G-quadruplex song song

B) RHAU140-CFP sẽ cho vào các hỗn hợp G-quadruplex song song (T95-2T), không song song (Hetelo) và không có DNA (No DNA), trong khi đó RHAU53-CFP được cho vào hỗn hợp chứa G-quadruplex song song (T95-2T). Sau khi rửa, kết quả sẽ được đọc bởi máy đọc huỳnh quang ở bước sóng kích thích 410nm và bước sóng phát ra 475nm

#### 4. Kết luận

Đã thu nhận được phân tử dò protein huỳnh quang RHAU140-CFP. Phân tử dò protein huỳnh quang này có thể nhận biết và phân biệt có chọn lọc giữa cấu trúc G-quadruplex song song và G-quadruplex không song song. Trong đó, độ nhạy với G-quadruplex song song, RHAU140-CFP cao hơn khoảng 03 lần so với RHAU53-CFP trong việc nhận biết đặc hiệu cấu trúc G-quadruplex song song. Như vậy, phân tử dò protein huỳnh quang RHAU140-CFP có thể được ứng dụng như một công cụ đầy tiềm năng để phát hiện G-quadruplex song song cả trong *invitro* và *in vivo*.

#### LỜI CẢM ƠN

Cảm ơn Giáo Sư Phan Anh Tuấn (Đại học Công Nghệ Nanyang, Singapore) đã cung cấp các plasmid.

#### Tài liệu tham khảo

- Biffi, G., Di Antonio, M., Tannahill, D., & Balasubramanian, S. (2014). Visualization and selective chemical targeting of RNA G-quadruplex structures in the cytoplasm of human cells. *Nature Chemistry*, 6(1), 75-80. doi:10.1038/nchem.1805
- Burge, S., Parkinson, G. N., Hazel, P., Todd, A. K., & Neidle, S. (2006). Quadruplex DNA: Sequence, topology and structure. *Nucleic Acids Research*, 34(19), 5402-5415. doi:10.1093/nar/gkl655
- 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
- Gellert, M., Lipsett, M. N., & Davies, D. R. (1962). Helix formation by Guanylic acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 48(12), 2013-2018. doi:10.1073/pnas.48.12.2013
- Kerwin, S. M., Mamiya, B., Brian, C., Fletcher, T., Kern, J. T., & Thomas, P. W. (2000). G-quadruplex DNA as a target for drug discovery: Design of telomerase inhibitors based on G-quadruplex DNA structure and dynamics. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society*, 219, U6-U6.
- Kim, N., & Yadav, P. (2015). The role of Top1 in maintaining genome stability at highly transcribed G4 sequences. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 56, S40-S40.
- Kwok, C. K., Ding, Y., Shahid, S., Assmann, S. M., & Bevilacqua, P. C. (2015). A stable RNA G-quadruplex within the 5'-UTR of Arabidopsis thaliana ATR mRNA inhibits translation. *Biochem Journal*, 467(1), 91-102. doi:10.1042/BJ20141063
- Lipps, H. J., & Rhodes, D. (2009). G-quadruplex structures: In vivo evidence and function. *Trends in Cell Biology*, 19(8), 414-422. doi:10.1016/j.tcb.2009.05.002
- Maizels, N. (2015). G4-associated human diseases. *EMBO Reports*, 16(8), 910-922. doi:10.15252/embr.201540607
- Maizels, N., & Gray, L. T. (2013). The G4 Genome. *Plos Genetics*, 9(4), Article e1003468. doi:10.1371/journal.pgen.1003468

- Morris, K. V., & Mattick, J. S. (2014). The rise of regulatory RNA. *Nature Reviews Genetics*, 15(6), 423-437. doi:10.1038/nrg3722
- 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. doi:10.1007/s12033-022-00552-7
- Nikan, M., Di Antonio, M., Abecassis, K., McLuckie, K., & Balasubramanian, S. (2013). An acetylene-bridged 6,8-purine dimer as a fluorescent switch-on probe for parallel G-quadruplexes. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 52(5), 1428-1431. doi:10.1002/anie.201207075
- Rhodes, D., & Lipps, H. J. (2015). G-quadruplexes and their regulatory roles in biology. *Nucleic Acids Research*, 43(18), 8627-8637.
- Sen, D., & Gilbert, W. (1988). Formation of parallel 4-Stranded complexes by Guanine-Rich Motifs in DNA and its implications for Meiosis. *Nature*, 334(6180), 364-366. doi:10.1038/334364a0
- Simone, R., Fratta, P., Neidle, S., Parkinson, G. N., & Isaacs, A. M. (2015). G-quadruplexes: Emerging roles in neurodegenerative diseases and the non-coding transcriptome. *FEBS Letters*, 589(14), 1653-1668. doi:10.1016/j.febslet.2015.05.003

