



ХРОНИКА

«ОРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ ДНК-ДУПЛЕКСОВ».
ПЕРВОЕ РАБОЧЕЕ СОВЕЩАНИЕ

В январе 1983 г. Научный совет по проблемам молекулярной биологии совместно с Министерством высшего образования СССР провел в МГУ первое рабочее совещание на тему «Органическая химия ДНК-дуплексов».

Двуспиральные нуклеиновые кислоты являются одной из важнейших макромолекулярных структур живой клетки. Это прежде всего двойная спираль ДНК в составе хромосом всех клеточных организмов и многих вирусов, двуспиральные РНК некоторых вирусов, репликативные формы РНК и ДНК вирусов, содержащих однонитевые нуклеиновые кислоты в составе вириона, дуплексы ДНК-РНК, возникающие при прямой и обратной транскрипции. Химия таких структур представляет интерес по крайней мере в четырех аспектах.

1) Реакционная способность нуклеотидов в составе дуплексов отражает особенности пространственной структуры последних. Например, отношение степеней модификации N⁷ гуанинов и N¹ аденинов в ДНК отражает степень совершенства двойной спирали. По этому тесту недавно Н. Д. Беляев и В. Г. Будкер (НИОХ СО АН СССР) зарегистрировали сильные искажения двойной спирали при переходе хромосом в конденсированное состояние, свойственное метафазе.

2) Дуплексы с произвольной или определенной последовательностью оснований — важные структурные элементы белково-нуклеинового узнавания (промоторы РНК-полимераз; сайты рестрикции; искаженные дуплексы, опознаваемые ферментами репарации; фрагменты, опознаваемые топоизомеразами, и мн. др.). Контроль образования химической связи дуплексов с белками в области узнавания является одним из самых тонких методов локализации областей узнавания у обоих партнеров.

3) Присоединение химических реагентов к олигонуклеотидам позволяет адресовать действие реагентов в определенный район нуклеиновой кислоты [1], содержащий последовательность, комплементарную олигонуклеотидному адресу, открывая путь к созданию мутаций в определенных генах [2], специфическому подавлению репликации вирусных нуклеиновых кислот и экспрессии определенных мРНК.

4) Пространственная сближенность реакционноспособных групп (например, фосфатной и гидроксильной) в составе ДНК-дуплекса создает «энзимоподобные контакты», что позволяет изучать химические реакции между фрагментами нуклеиновой кислоты [3], которые межмолекулярно в водных растворах практически не идут. Понимание закономерностей протекания таких реакций открывает возможность полностью химического синтеза ДНК-дуплексов не только из природных одностежковых олигонуклеотидов (природных генов), но и из неприродных, в том числе построенных из *L*-изомеров нуклеотидов.

Последняя проблема была представлена в серии работ, выполненных в МГУ. В результате детального изучения закономерностей активации водорастворимыми карбодимидами фосфатов в местах разрывов в ДНК-дуплексах создан препаративный метод химической поликонденсации комплементарных олигонуклеотидов (Н. Г. Долинная). Использование имидазольных олигонуклеотидов в присутствии 1-метилимидазола позволяет проводить эффективное химическое лигирование в ДНК-дуплексах в отсутствие конденсирующего агента (М. Г. Исагулянц). Таким путем проведены препаративные полностью химические синтезы 50–200-звенных ДНК-дуплексов, содержащих повторяющиеся сайты эндонуклеаз рестрик-

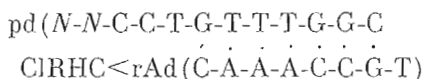
днн EcoRI, EcoRII и др. (А. Л. Елов), а также ТАТА- или Прибноу-бокс, дуплексы с повторяющимися (Pur-Pur)-последовательностями. Возможности метода продемонстрированы на сборке ДНК-дуплексов из модифицированных олигонуклеотидов, содержащих концевые 3'-амино- и 3',5'-бисфосфатные группы. С количественными выходами получены ДНК-дуплексы, содержащие в сайте рестрикции фосфамидные (А. Ф. Горкун) и пиррофосфатные (А. А. Пурмаль) узлы. В докладе А. А. Пурмали обсуждались закономерности взаимодействия ДНК, содержащих неприродные связи, с соответствующими эндонуклеазами рестрикции.

О методах синтеза олигодезоксирибонуклеотидов, содержащих фосфамидные связи, — перспективных субстратов для сборки модифицированных ДНК-дуплексов — сообщили А. А. Ажаев и В. Чернов (ИМБ АН СССР).

В докладах, представленных Новосибирским институтом органической химии Сибирского отделения Академии наук СССР, были освещены последние работы по комплексарно адресованной модификации.

В докладе С. А. Казакова сообщено об использовании гетеробифункциональных координационных соединений платины (*cis*-[(NH₃)₂Pt·(H₂O)(OH)]NO₃ и [(H₂O)Pt(dien)(CH₂)₆(dien)PtBr](NO₃)₃, где dien — диэтилентриамин) для получения реакционноспособных производных олиго- и полинуклеотидов, сохраняющих при этом способность к комплементарному взаимодействию и эффективно модифицирующих нуклеиновые кислоты в комплементарных комплексах. Достоинством платиновых соединений, образующих с нуклеиновыми кислотами связи, устойчивые в условиях биохимических процедур, является то, что эти связи могут быть расщеплены обработкой тиомочевинной или KCN в мягких условиях.

В докладе Н. П. Пичко были приведены данные по изучению реакции алкилирования в комплементарном дуплексе общей структуры



(ClRHC < -2',3'-O-[4-(N-2-хлорэтил-N-метиламино)бензилиден], N = A, G, T или C) и показано, что во всех случаях реакция проходит по группам N, причем скорость реакции на 4—5 порядков превышает скорость образования этилениммонийкатиона — лимитирующей стадии при алкилировании ароматическими 2-хлорэтиламинами. Это означает, что реакция алкилирования в комплементарных комплексах такого типа протекает с изменением механизма алкилирования.

В докладе А. С. Райт сообщалось о проведении алкилирования биополимеров в клетках асцитной карциномы Кребса 2',3'-O-[4-(N-2-хлорэтил-N-метиламино)бензилиден]овыми производными нонатимидилилуридина и его пепонного, этилированного по межнуклеотидным фосфатам аналога. Установлено, что в соответствии с принципом комплементарности в 100 раз эффективнее по сравнению с другими фракциями нуклеиновых кислот алкилируются poly(A)-фрагменты мРНК.

Проблеме комплексарно адресованного алкилирования нуклеиновых кислот были посвящены также доклады Н. И. Гриневой и Е. Ю. Крынецкого (ЦНИИ ГПК). Изложены результаты последних работ по алкилированию ДНК *D. Diskoideum E. coli* в гибридных комплексах с производными (U)₂₅, (A)₂₅ и тРНК. В депатурирующих средах алкилирование протекает, как и гибридизация, с насыщением и ингибируется соответствующими полинуклеотидами. Метод позволяет модифицировать концы структурных генов тРНК и зоны терминации транскрипции.

О модификации ДНК фага λ по местам связывания с РНК-полимеразой *E. coli* сообщил В. А. Петренко (ВНИИ молекулярной биологии). Модификация комплекса проводилась O-4-аминooksибутилгидроксиламинам. Генетически закрепленные модификации ДНК (С-Т-транзиции) оказались локализованными в участках с искаженной под действием РНК-полимеразы структурой.

Н. Ф. Калинина (ИБХ АН СССР) сообщила, что ДНК после обработки N-бромсукцинимидом расщепляется по цитидиновым и гуаниновым звень-

ям. Реакция может быть использована в стандартном методе Максама — Гилберта. Скорость модификации ДНК-дуплексов N-бромсукцинимидом значительно ниже, чем однопечечных участков, что может быть использовано для зондирования вторичной структуры ДНК.

В докладе Н. А. Симуковой (ИБХ АН СССР) было показано, что лазерное УФ-излучение вызывает в компонентах нуклеиновых кислот двухквантовые процессы, которые приводят к образованию продуктов, аналогичных продуктам γ -радиолиза. С заметной эффективностью протекает расщепление N-гликозидных связей с образованием немодифицированных оснований. При облучении ДНК наряду с этими процессами эффективно протекает образование димеров тимина.

В работе первого совещания «Органическая химия ДНК-дуплексов» приняли участие ведущие коллективы страны (НИОХ СО АН СССР, МГУ, ИБХ, ИМБ, ЦНИИ ГПК и др.). Большой интерес к совещанию и активные дискуссии продемонстрировали своевременность обсуждения проблемы и приоритетный ее характер. Многие направления исследования ДНК-дуплексов были начаты в 70-х годах в СССР: например, комплементарно адресованная модификация ДНК — в НИОХ СО АН СССР, химическое лабирование в ДНК-дуплексах — в МГУ. Регулярное проведение рабочих совещаний по данной проблеме будет способствовать развитию широкого фронта работ в этой области биоорганической химии и молекулярной биологии.

Д. Г. Кнорре, Э. А. Шаварова

ЛИТЕРАТУРА

1. Grineva N. I., Karova G. G. FEBS Lett., 1973, v. 32, № 2, p. 351–355.
2. Салганик Р. И., Дианов Г. Л., Курбаров В. А., Шишкин Г. В., Галль А. А. Докл. АН СССР, 1978, т. 239, № 1, с. 217–219.
3. Shabarova Z. A., Prokofiev M. A. FEBS Lett., 1970, v. 11, № 4, p. 237–240.

Поступила в редакцию
1.VI.1983

Технический редактор *Кузьмишкина Е. С.*

Сдано в набор 20.10.83 Подписано к печати 5.12.83 Т-22046 Формат бумаги 70×108 $\frac{1}{16}$
Высокая печать Усл. печ. л. 12,6 Усл. кр.-отт. 10,8 тыс. Уч.-изд. л. 10,8 Бум. л. 4,5
Тираж 842 экз. Зак. 3279

Издательство «Наука»: 103717 ГСП, Москва, К-62, Подсосенский пер., 21
2-я типография издательства «Наука». 121099, Москва, Шубинский пер., 10