



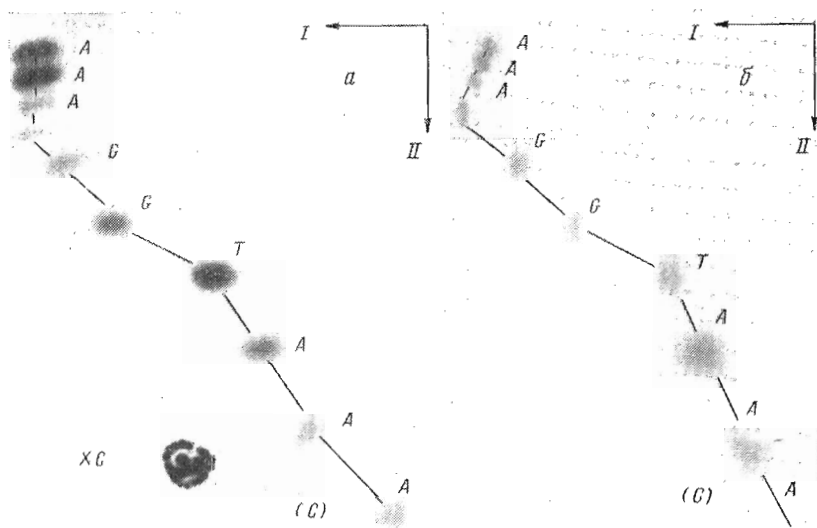
УДК 577.113.5

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕРВИЧНОЙ СТРУКТУРЫ АНАЛОГОВ ОЛИГОДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕОТИДОВ С P—S—C(5')-СВЯЗЯМИ

*Рыбаков В. И., Ривкин М. И., Богачев В. С.,
Кумарев В. И.*

*Институт цитологии и генетики Сибирского отделения
Академии наук СССР, Новосибирск*

Исследование субстратных свойств аналогов нуклеиновых кислот имеет важное значение для изучения специфичности и механизма действия ряда ферментов и выявления особых свойств этих аналогов, обеспечивающих их последующее научное и практическое применение. Одним из наиболее перспективных классов аналогов являются, на наш взгляд, нуклеиновые кислоты, в которых один из атомов кислорода каждой межнуклеотидной фосфодиэфирной связи замещен на атом серы. В зависимости от положения замещаемого атома кислорода эти аналоги можно разбить на три группы: 1) аналоги с C(3')—S—P-связями; 2) аналоги с S=P—O—C(5')-связями; 3) аналоги с P—S—C(5')-связями*. Аналоги первой группы до сих пор не были получены и не изучались. Аналоги второй группы обладают очень интересными субстратными свойствами и являются мощными индукторами интерферона [1, 2]. Субстратные свойства



Двумерное разделение продуктов частичного гидролиза 5'-³²P-фосфорилированных декадезоксинуклеотида SAAATGGAAA (а) и его аналога с P—S—C(5')-связями (б) фосфодиэстеразой змеиного яда; направление I — электрофорез на ацетиладцеллюлозе в пиридин-ацетатном буфере (рН 3,5) при 90 В/см, направление II — гомохроматография в гомосмеси V при 65 (а) и 37°С (б; гомосмесь дополнительно содержала 0,05 М β-меркаптоэтанол); XC — краситель ксиленцианол

аналогов третьей группы пока еще изучены недостаточно, однако уже выявленная в настоящее время комбинация обычных и необычных субстратных свойств этих тиопроизводных делает возможным их применение в энзимологии и молекулярной биологии [3–5].

* Сокращенно — олиготионуклеотиды.

К сожалению, вплоть до недавнего времени использование олиготиодезоксинуклеотидов в молекулярно-биологических исследованиях в значительной степени ограничивалось тем, что не существовало метода секвенирования этих аналогов; мы обнаружили, что используемые обычно для подтверждения первичной структуры олигодезоксинуклеотидов методы получения нуклеотидных карт после фосфоэстеразного гидролиза [6, 7] или частичной химической деградации [8] непригодны для секвенирования олиготионуклеотидов. В первом методе это обусловлено деградацией олиготионуклеотидов в ходе гомохроматографии, по-видимому, вследствие их значительно меньшей по сравнению с олигодезоксинуклеотидами устойчивости к окислению [9]. Поэтому мы разработали гомохроматографию в более мягких условиях (не при 65, а при 37° С; стандартные гомомеси содержали дополнительно 0,05 М β-меркаптометанол), при которой не происходило сколько-нибудь заметной деградации олиготионуклеотидов, и модифицированный таким образом метод [7] позволяет воспроизводимо получать нуклеотидные карты олиготионуклеотидов.

Примером использования модифицированной методики являются представленные на рисунке нуклеотидные карты декадезоксинуклеотида САААТGGAAA и его аналога с P-S-C(5')-связями (их синтез описан ранее [10-12]). Можно видеть, что эти нуклеотидные карты практически идентичны. Таким образом, стандартные правила расфировки нуклеотидных карт олигодезоксинуклеотидов, очевидно, полностью применимы и в случае их аналогов с P-S-C(5')-связями.

Авторы признательны Е. Ф. Зайчикову за полезные замечания.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Шолмтейн Р. С., Гиллер С. Н.* В кн.: Успехи химии гетероциклов. Рига: Зинатне, 1976, с. 307-322.
2. *Eckstein F.* Accounts Chem. Res., 1979, v. 12, № 1, p. 204-210.
3. *Rybakov V. N., Rivkin M. I., Kumarev V. P.* Nucl. Acids Res., 1981, v. 9, № 1, p. 189-201.
4. *Рыбаков В. Н., Ривкин М. И., Богачев В. С., Кумарев В. П.* Биоорган. химия, 1981, т. 7, № 9, с. 1423-1425.
5. *Потупов В. А., Рыбаков В. Н., Богачев В. С., Ривкин М. И., Кумарев В. П.* Биоорган. химия, 1983, т. 9, № 7, с. 954-957.
6. *Sanger F.* In: Virus Research/Eds Fox S., Robinson W. N. Y.: Acad. Press, 1973, p. 573-598.
7. *Tu C. P., Jay E., Bahl C. P., Wu R.* Anal. Biochem., 1976, v. 74, № 1, p. 73-93.
8. *Maxam A., Gilbert W.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1977, v. 74, № 2, p. 560-564.
9. *Kress J., Nagpal K. L., Nagvary J., Uchic J. T.* Nucl. Acids Res., 1975, v. 2, № 1, p. 1-9.
10. *Kumarev V. P., Rivkin M. I., Bogachev V. S., Baranova L. V., Merkulov V. M., Rybakov V. N.* FEBS Lett., 1980, v. 114, № 2, p. 273-277.
11. А. с. 979 361 (СССР) Способ получения олигодезокситионуклеотидов/Кумарев В. П., Богачев В. С., Рыбаков В. Н. Заявл. 30.09.76, № 3285636. Оpubл. в Б. И., 1982, № 45.
12. *Кумарев В. П., Богачев В. С., Кобзев В. Ф., Баранова Л. В., Ривкин М. И., Рыбаков В. Н.* Биоорган. химия, 1982, т. 8, № 11, с. 1525-1534.

Поступило в редакцию
10.VI.1985

SEQUENCE DETERMINATION OF ANALOGUES OF OLIGODEOXYRIBONUCLEOTIDES CONTAINING P-S-C(5') BONDS

РЫБАКОВ В. Н., РИВКИН М. И., БОГАЧЕВ В. С., КУМАРЕВ В. П.

*Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Academy
of Sciences of the USSR, Novosibirsk*

Analogues of oligodeoxynucleotides with P-S-C(5') bonds, which, due to their unusual substrate properties, may find interesting applications in molecular biology, can not be structurally analysed by the Maxam-Gilbert or Sanger (fingerprinting) methods. We, therefore, devised a modification of the fingerprinting technique making possible the sequence determination of these analogues.