



ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

УДК 547.963.32.04

**КОВАЛЕНТНЫЕ КОМПЛЕКСЫ НУКЛЕОТИДОВ
И НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ С БЕЛКАМИ.
ИХ РАСПРОСТРАНЕНИЕ, СТРУКТУРА, ФУНКЦИИ ****Юодка Б. А.**Кафедра биохимии и биофизики Вильнюсского государственного
университета им. В. Касюкаса*

В обзоре рассматриваются распространение, структура и функции комплексов нуклеотидов и нуклеиновых кислот с белками, в которых отдельные компоненты соединены между собой ковалентными связями. Обсуждаются нуклеотид-белковые комплексы, образующиеся при действии ДНК- и РНК-лигаз, глутаминсинтетазы, аспараткиназы, галактозо-1-фосфат — уридилилтрансферазы, ряда фосфодиэстераз, РНК-полимеразы. ДНК-белковые комплексы разделены на две группы: комплексы, которые существуют в клетке постоянно (аденовирусы, бактериофаги φ29, φ15, M2, Ga-1, асцит Эрлиха, бактерии *E. coli*), и комплексы, которые образуются при действии на ДНК релаксирующих ферментов. Отдельная глава посвящена РНК-белковым комплексам. Обсуждается роль модельных соединений в установлении природы химической связи между нуклеотидом или нуклеиновой кислотой и белком.

Биологические функции нуклеиновых кислот проявляются в непосредственном контакте с белками. Почти все нуклеиновые кислоты *in vivo* находятся в виде комплексов с белками. В основном взаимодействие в таких комплексах нековалентное. Однако в процессе биосинтеза белка при действии ряда ферментов, а также при синтезе и функционировании некоторых нуклеиновых кислот образуются также и ковалентные комплексы (нуклеотидопептиды).

Все природные нуклеотидопептиды могут быть разделены на четыре группы: 1) нуклеотид — аминокислота; 2) нуклеотид — белок; 3) нуклеиновая кислота — аминокислота; 4) нуклеиновая кислота — белок. В последнее время появилось много работ, посвященных выяснению структуры и функций природных нуклеотидопептидов. Цель настоящего обзора — рассмотреть распространение, структуру и функции нуклеотидопептидов типа 2 и 4, а также обсудить возможность применения модельных соединений для выяснения природы химической связи между нуклеотидом (нуклеиновой кислотой) и белком.

I. Нуклеотид-белковые комплексы

В настоящее время известен ряд ферментов, образующих ковалентные комплексы с нуклеотидами. Это некоторые флавопротеиды, ДНК- и РНК-лигазы, глутаминсинтетаза, аспараткиназа, галактозо-1-фосфат — ури-

* В обзоре проанализирована литература до 1 сентября 1979 г.

дилитрансфераза, ряд фосфодиэстераз, РНК-полимераза и, возможно, амилоадил-тРНК-синтетаза. В данной главе не будут затронуты флавопротеиды, так как им посвящены обзоры и подробные статьи [1—4].

1. Комплексы ДНК- и РНК-лигаз и адениловой кислоты. В 1967 г. из бактерий *E. coli* и *E. coli*, зараженных фагами, были выделены новые ферменты — ДНК-лигазы (КФ 6.5.1), катализирующие NAD^+ или АТР-зависимое сшивание олигонуклеотидов (полнуклеотидов) на комплементарной матрице и играющие важную роль в репарации, репликации и генетической рекомбинации [5—9]. В настоящее время ДНК-лигаза обнаружена или выделена из разных прокариотических и эукариотических источников (см. обзоры [10—12]), что указывает на универсальность фермента. Вскоре после открытия ДНК-лигазы появились работы, обсуждающие механизм ее действия. Было показано [5, 7, 8], что одним из субстратов ДНК-лигазы из бактерий (КФ 6.5.1.2) служит кофермент NAD^+ , который в результате реакции распадается на АМР и никотинамидмононуклеотид. ДНК-лигаза из бактерий *E. coli*, зараженных бактериофагами [6, 9], из животных [10, 11] и растений [10, 11] (КФ 6.5.1.4), требует для своего действия присутствия АТР, который в процессе реакции распадается на АМР и пирофосфат.

На первой стадии ДНК-лигазной реакции во всех случаях образуется комплекс лигазы с АМР, впервые обнаруженный в 1967 г. [13]. Было показано [13], что АМР-лигазный комплекс из *E. coli* стабилен в нейтральной и щелочной среде и расщепляется в кислой среде; аналогичный комплекс лигазы из животных, напротив, был стабилен в кислой среде [14], но расщеплялся в жестких щелочных условиях. Все это позволило предположить [13, 14], что АМР присоединяется к ферменту с помощью ковалентной связи. Природа этой связи для комплекса из бактерий *E. coli* и *E. coli*, зараженных фагами Т4, была установлена в 1971 г. [15]. Инкубация АМР-лигазного комплекса с 3,8 М гидроксиламином при рН 4,75 привела к полному его расщеплению, что характерно для фосфоамидной связи [17, 18]. Более того, в результате гидролиза комплекса протеолитическими ферментами был получен аденилил-(5'→N^e)-лизин. Это позволило сделать вывод [15], что АМР присоединяется к ДНК-лигазе через ε-аминогруппу лизина с помощью фосфоамидной связи.

Известно [16—18], что фосфоамидная связь обычно устойчива в щелочной среде. В экспериментах, проведенных нами, было показано, что комплекс АМР с ДНК-лигазой из *E. coli*, зараженных фагами Т4, в этих условиях лабилен. Показано [19], что фосфоамидный центр в модельных нуклеотидил-(5'→N)-пептидах расщепляется в щелочной среде только тогда, когда рядом с ним находится свободная гидроксильная группа оксиаминокислот. Все это позволяет предположить, что в комплексе АМР и ДНК-лигазы рядом с фосфоамидной связью локализована гидроксильная группа остатка серина или треонина.

Тонкая структура комплекса ДНК-лигаза — аденилат в случае эукариот не установлена.

В 1972 г. из бактерий *E. coli*, зараженных фагами Т4, был выделен новый фермент РНК-лигаза (КФ 6.5.1.3) [20], катализирующий АТР-зависимую циклизацию и сшивание олигонуклеотидов. Показано [21, 22], что на первой стадии РНК-лигазной реакции тоже образуется комплекс фермента с АМР. Данные о структуре этого комплекса в литературе отсутствуют. Нам установлено [23], что АМР-РНК-лигазный комплекс частично расщепляется кислотой и гидроксиламином и легко гидролизуетея щелочью и фосфодиэстеразой змеиного яда. Приведенные результаты и данные, полученные ранее при исследовании модельных нуклеотидопептидов [18, 19, 24, 25], позволяют предположить наличие фосфодиэфирной связи, в образовании которой участвует гидроксильная группа оксиаминокислот или фосфоамидной связи, аналогичной рассмотренной для комплекса АМР с ДНК-лигазой.

2. *Нуклеотидопептиды, образующиеся при регуляции действия глутаминсинтетазы.* Глутаминсинтетаза (КФ 6.3.1.2) катализирует важную реакцию обмена аминокислот и азота — биосинтез глутамина из глутаминовой кислоты и аммиака в присутствии АТФ. Фермент обнаружен в самых разных прокариотических [26—29] и эукариотических [30—35] источниках. Глутаминсинтетаза очень сложный фермент. Наиболее подробно он изучен в случае бактерий *E. coli*. Фермент состоит из 12 субъединиц [36] и имеет сложную систему регуляции. Установлено [26], что под действием аденилилтрансферазы к глутаминсинтетазе присоединяется адениловая кислота и образуется АМР-глутаминсинтетазный комплекс, не обладающий ферментативной активностью. Показано [37], что этот комплекс стабилен и связь между АМР и белком ковалентная. Действие протеолитических ферментов на АМР-глутаминсинтетазный комплекс привело к АМР-декапептиду [38], не содержащему диаминокислот, серина и треонина. Единственной аминокислотой с функциональной группой в боковой цепи был тирозин. Гидролиз АМР-декапептида 1 М NH_4OH в течение 5 ч при 105°C приводил к расщеплению комплекса лишь на 50%. В кислой среде гликозидная связь в АМР расщеплялась раньше, чем связь между нуклеотидом и пептидом. Модельное соединение *O*-фосфотирозин тоже было довольно устойчиво в кислой и щелочной среде. Фосфодиэстераза из змеиного яда отщепляла АМР от АМР-декапептида. Все эти данные, а также спектрофотометрические характеристики АМР-декапептида позволили сделать вывод [38], что АМР присоединяется к остатку тирозина глутаминсинтетазы с помощью фосфодиэфирной связи. Показано [39], что эта связь макроэргическая (ΔG° 10 ккал/моль; ΔH° 1,7 ккал/моль; ΔS° 0 кал/град·моль).

Аденилилтрансфераза, катализирующая образование АМР-глутаминсинтетазного комплекса из АТФ и глутаминсинтетазы, катализирует и обратную реакцию — превращение комплекса в активный фермент [40]. Оказалось, что эти реакции регулирует белок P_{II} (M 44 000) [41, 42], который взаимодействует с аденилилтрансферазой и стимулирует образование АМР-глутаминсинтетазного комплекса. Этот же белок, присоединивший УМР, стимулирует уже обратную реакцию — отщепление АМР от комплекса. Таким образом, уридилирование и дезуридилирование белка P_{II} является еще одной ступенью сложного процесса регуляции действия глутаминсинтетазы. Оказалось [43], что в комплексе УМР — белок P_{II} нуклеотид присоединен к белку с помощью ковалентной связи. Недавно показано [42], что и в данном случае УМР присоединяется к остатку тирозина белка P_{II} с помощью фосфодиэфирной связи.

Таким образом, при регуляции действия глутаминсинтетазы образуются два нуклеотид-белковых комплекса с ковалентной связью между отдельными компонентами. В обоих случаях нуклеотид присоединяется к остатку тирозина белков с помощью фосфодиэфирной связи.

3. *АМР-аспартаткиназный комплекс.* Аспартаткиназа (КФ 2.7.2.4) катализирует АТФ-зависимое превращение аспарагиновой кислоты в 4-фосфоаспарагиновую кислоту. В бактериях *E. coli* обнаружены три аспартаткиназы [44—47]. Показано [47, 48], что аспартаткиназа III *in vivo* находится как в активной, так и в неактивной форме. Неактивная форма фермента отличается наличием присоединенного к нему остатка нуклеотида. При денатурации фермента гуанидином нуклеотид остается связанным с ферментом [48]. Рехроматография комплекса на DEAE-сефадексе или сефадексе G-200 и электрофорез в полиакриламидном геле не разрушают его. Авторы предполагают [48], что в комплексе нуклеотид присоединен к аспартаткиназе III с помощью ковалентной связи. Эксперименты *in vitro* (инкубация фермента, аспарагиновой кислоты и разных рибонуклеозидтрифосфатов) показали [48], что предполагаемым нуклеотидом является АМР. Однако не исключено, что *in vivo* к ферменту может присоединиться и другой нуклеотид.

Комплекс АМР—аспартаткиназа полностью разрушается при инкубации с фосфодиэстеразой змеиного яда, что позволило предположить [48] в нем фосфодиэфирную связь. Электрофорез при рН 8,3 разрушал комплекс на 10%. Хроматография на дауэксе 1×2 АМР—пептидов, полученных после гидролиза комплекса трипсином, или разделение их с помощью электрофореза на бумаге при рН 6,5 с последующей хроматографией на бумаге в системе бутиловый спирт—уксусная кислота—вода, 4:1:5, приводили к разрушению нуклеотидопептидов на 85%. Эти данные говорят о том, что связь в АМР—аспартаткиназном комплексе довольно лабильна как в кислой, так и в щелочной среде. Известно [25], что фосфодиэфирная связь, в образовании которой участвуют нуклеотид и гидроксильная группа тирозина, довольно устойчива по отношению к химическим агентам. Этот факт позволяет, с нашей точки зрения, исключить тирозин как аминокислоту, принимающую участие в образовании АМР—аспартаткиназного комплекса. Проведенные исследования гидролитической устойчивости нуклеотидил-(5'→O)-серил(треонил)глицинов показали [24], что фосфодиэфирная связь в них лабильнее, чем в производном тирозина [25]. Это дает возможность предположить, что в комплексе АМР—аспартаткиназа III связь между отдельными компонентами комплекса является фосфодиэфирной, причем в ее образовании участвует гидроксильная группа остатка серина или треонина.

Аденилирование аспартаткиназы III связано с регуляцией ее действия [48].

4. *Комплекс УМР—галактозо-1-фосфат—уридилилтрансфераза.* Галактозо-1-фосфат—уридилилтрансфераза (КФ 2.7.7.12) катализирует обратимое превращение UDP-глюкозы в UDP-галактозу. Фермент обнаружен в микроорганизмах, животных и растениях [49—53]. Наиболее подробно изучен фермент из *E. coli*. Показано [54], что реакция протекает через УМР—галактозо-1-фосфат—уридилилтрансферазный комплекс (УМР—Е):

$$\text{UDP-глюкоза} + \text{Е} \rightleftharpoons \text{УМР-Е} + \text{глюкозо-1-фосфат};$$

$$\text{галактозо-1-фосфат} + \text{УМР-Е} \rightleftharpoons \text{Е} + \text{UDP-галактоза}.$$

Исследование комплекса УМР—Е показало [55], что связь между нуклеотидом и белком ковалентная. Она оказалась устойчивой в щелочной среде (рН 10,5; 4°С; 15 ч) и полностью гидролизовалась в кислой среде (рН 3,5; 4°С; 15 ч). Это позволило предположить, что связь в УМР—Е является фосфоамидной. Учитывая чувствительность фермента к диэтилпирокарбонату, модифицирующему имидазольное кольцо гистидина, авторы допускают, что УМР может присоединиться к галактозо-1-фосфат—уридилилтрансферазе с помощью фосфоамидной связи с имидазольным кольцом гистидина. Совсем недавно это предположение было доказано [56]. Обработкой УМР—галактозо-1-фосфат—уридилилтрансферазного комплекса периодатом натрия с последующим добавлением слабой щелочи (рН 10,5) был получен фосфорилфермент, в результате гидролиза которого 3 М NaOH (110°С, 90 мин) удалось выделить N-фосфогистидин. Удивляет относительная стабильность УМР—белкового комплекса в водных растворах, так как модельный метиловый эфир уридилил-(5'→N^{im})-N-Cbz-гистидина оказался чрезвычайно лабильным соединением, которое в воде мгновенно превращается в УМР и его симметричный пиррофосфат (неопубликованные данные автора). Возможно, что белковый компонент комплекса стабилизирует фосфоамидную связь. Такой эффект обнаружен в случае модельных нуклеотидил-(P→N)-пептидов [18, 57].

5. *Другие нуклеотидил-ферментные комплексы.* Из разных источников выделен еще ряд ферментов, при функционировании которых образуются устойчивые комплексы с нуклеотидами. К числу таких ферментов относятся нуклеотидфосфодиэстеразы (КФ 3.1.4.1). Показано, что на одной из стадий действия 5'-нуклеотидфосфодиэстеразы из бычьих кишок [58, 59], 3'-нуклеотидфосфодиэстеразы из селезенки [60], экзонуклеазы А5 [61] образуется нуклеотид-ферментный комплекс с ковалентной связью между

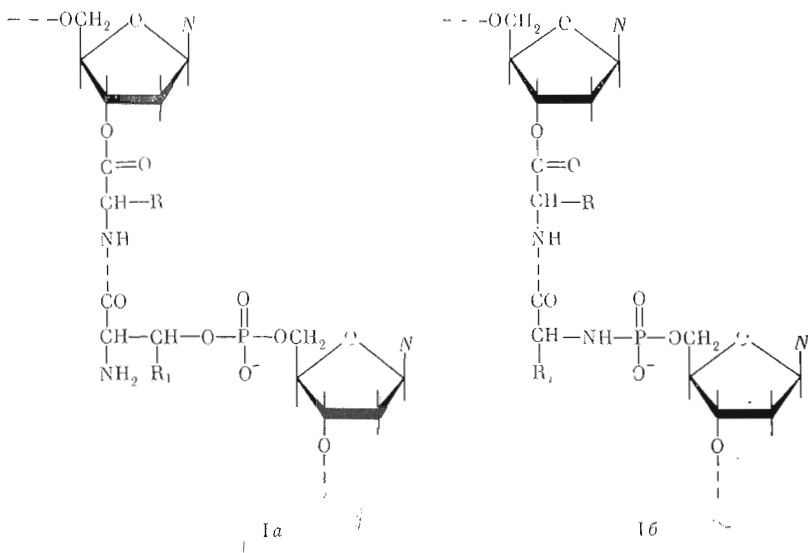
компонентами. Однако природа связи окончательно не установлена. Наиболее подробно изучена 5'-нуклеотидфосфодиэстераза из бычьих кишок. Инкубация фермента с аденозин-3',5'-циклофосфатом привела к образованию фермент-аденилатного ковалентного комплекса, который был выделен [59]. Исследование гидролитической устойчивости комплекса при различных значениях pH показало, что он устойчив в кислой (0,1 н. HCl; 10,5 ч; 55° С) и нейтральной (pH 7; 10,5 ч; 55° С) средах и легко гидролизуется в щелочной среде (50% комплекса расщепляется в течение 4,9 ч при pH 13 и 55° С). Фермент-аденилатный комплекс полностью расщепляется активной 5'-нуклеотидфосфодиэстеразой. Все это позволило авторам предположить, что связь между ферментом и АМР является фосфодиэфирной и в образовании ее принимает участие гидроксильная группа остатка серина или треонина. В пользу таких выводов говорят и данные по гидролитической устойчивости модельных соединений [24].

Предполагается [62], что при функционировании аминоацил-тРНК-синтетаз также образуется ковалентный комплекс с АМР. В данном случае обсуждается наличие фосфоамидной связи, в образовании которой участвует имидазольное кольцо гистидина.

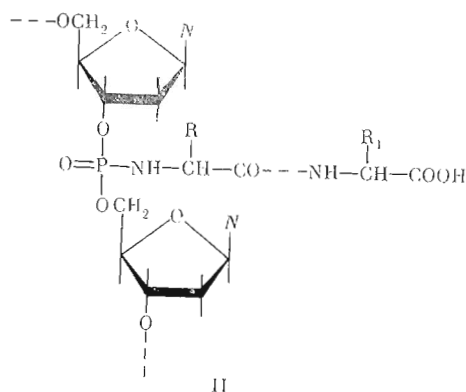
Установлено [63], что одним из способов регуляции действия РНК-полимеразы из *E. coli* является ее аденилирование и дезаденилирование. Недавно показано [64], что АМР ковалентно присоединяется к α -субъединице РНК-полимеразы. Протеолизом комплекса были получены простые нуклеотидопептиды, которые расщеплялись фосфодиэстеразой змеиного яда, что свидетельствует в пользу фосфодиэфирной связи между АМР и белком.

II. ДНК-белковые комплексы

В клетках всех организмов ДНК специфически связываются с белками, пептидами и другими природными соединениями, образуя сложный функционирующий генетический аппарат. В основном взаимодействие ДНК и белков нековалентное. Однако уже давно в ДНК различного происхождения было обнаружено около 0,1—3% остаточного прочно связанного белка, функции которого не выяснены [65—77]. Первые попытки выяснить структуру такого ДНК-белкового комплекса были осуществлены на ДНК из ядер печени крыс [67, 68]. Авторы показали, что связь между ДНК и белком лабильна в кислой среде, и после действия на комплекс протеиназ и нуклеаз выделили нуклеотидопептид. Однако природу связи между нуклеотидом и пептидом выяснить не удалось. В случае ДНК из спермы быка и лейкоцитов человека был установлен аминокислотный состав остаточного ундекапептида [75], большую часть которых составляют оксиаминокислоты. Можно было думать, что именно они играют особую роль в образовании ДНК-пептидного комплекса и непосредственно связаны с полинуклеотидной цепью. Обнаружение в кислотных гидролизатах ДНК О-фосфосерина и изменение молекулярного веса ДНК под действием гидроксилана позволили предположить [75], что пептиды или белки сшивают отдельные одно- или двухцепочечные фрагменты ДНК в нативную молекулу. Возможно, что С-конец белка образует сложноэфирную связь с 3'-гидроксильной группой одного фрагмента ДНК, а N-концевая оксиаминокислота белка присоединяется к 5'-концевому фосфату второго фрагмента ДНК с помощью фосфодиэфирной связи (1а). Устойчивость ДНК-пептидов из *E. coli* в щелочной среде привела к другому предположению [76], отдающему предпочтение фосфоамидной связи (1б). Дальнейшие исследования ДНК-пептидного комплекса из *E. coli* показали [78], что под действием проназы молекулярный вес ДНК не уменьшается.



Этот факт позволил авторам отказаться от гипотезы белковой сшивки в ДНК и предположить, что пептиды связаны с ДНК по межнуклеотидному остатку фосфата с помощью фосфоамидной связи (II).



Похожие ДНК-пептиды выделены из клеток асцита Эрлиха [79]. При действии проназы на ДНК из этих клеток было обнаружено уменьшение ее константы седиментации с 70 до 26 S [79]. Авторы предполагают, что исследуемая ДНК имеет пептидные или белковые мостики. Однако природа химических связей, с помощью которых белок сшивает отдельные фрагменты ДНК, и функции этих белков неизвестны. Возможно [75], что белковые сшивки придают гибкость жесткой молекуле ДНК и облегчают ее компактную упаковку в вирусной частице.

В бактериях *E. coli*, зараженных фагами P1, были обнаружены трансдуцирующие частицы, состоящие из ДНК фага P1 и *E. coli* и белка [80]. Они были лабильны в щелочной среде, что позволило авторам предположить наличие сложноэфирной связи.

Недавно ковалентно связанные белки были обнаружены в ДНК из аденовирусов человека [81-86] и обезьян [87], из бактериофагов φ29 [88-96], φ15 [90], M2 [97], GA-1 [98, 99]. Эти ДНК, выделенные экстракцией в присутствии протеолитических ферментов, имеют линейную двухспиральную структуру с молекулярным весом около $1,2 \cdot 10^7$ в случае бактериофагов [92, 97, 98] и $2,3 \cdot 10^7$ в случае аденовирусов [100, 101]. Было показано [81, 83, 88, 99, 102], что ДНК, выделенная в отсутствие проте-

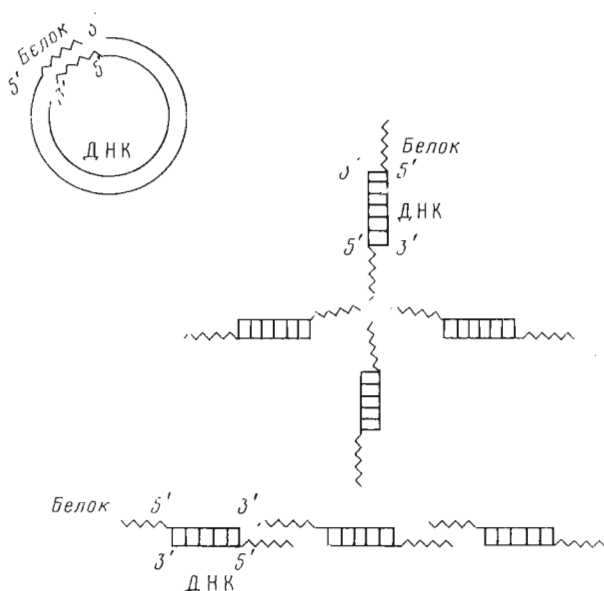


Рис. 1. Различные формы аденовирусных ДНК, обусловленных белок-белковым взаимодействием

иназ, имеет циклическую, пучкообразную многоцепочечную или, в случае высокой концентрации вирусов, олигомерную структуру (рис. 1). Большинство таких структур устойчиво к действию 4 М гуанидиния, 4 М мочевины, 2М перхлората натрия, 50% формамида, 10% пиридина, 0,5% дезоксихолата натрия, 1% перекиси водорода, 1% меркаптоэтанола, фенола и других химических агентов [83, 93—95]. Однако протеиназы или додецилсульфат натрия быстро превращают все эти формы ДНК в линейные двухспиральные молекулы [83]. Установлено [81, 83, 87, 99, 102], что образование этих форм ДНК обусловлено неспецифическим взаимодействием между белками, присоединенными к обоим концам линейных двухспиральных ДНК (рис. 1).

Более подробно изучены ДНК-белковые комплексы в случае ДНК из аденовирусов человека типа 2 (Ad2), 5 (Ad5) и из бактериофага φ29. Установлено [85], что 90—95% ДНК аденовирусов содержат присоединенные белки. Количество белка в таких ДНК-белковых комплексах не превышает 2% общего веса комплекса [83]. Молекулярный вес белкового фрагмента составляет около 55 000 в случае аденовирусов [83] и около 28 000—31 000 в случае бактериофага φ29 [93—95, 102]. Комплекс устойчив к действию гуанидиния, солей в высоких концентрациях, мочевины, додецилсульфата натрия и других химических агентов [83, 85, 93, 94, 96]. Эти факты позволили сделать вывод, что белок присоединен к ДНК с помощью ковалентной связи. Аналогичный вывод сделали и в случае обезьяньего аденовируса SA7 [87] и бактериофагов φ15 [90], M2 [97] и GA-1 [98, 99]. В комплексе ДНК устойчива к действию 5'-экзонуклеаз, полинуклеотидкиназы (даже после предварительной обработки щелочной фосфатазой) и легко расщепляется 3'-экзонуклеазами [81—85, 87, 93—95, 102]. Это говорит о том, что белки присоединены к 5'-концам ДНК. Инкубация олигонуклеотид-белкового комплекса, полученного после действия панкреатической ДНКазы на ДНК-белок из аденовирусов, с фосфодиэстеразой змеиного яда и протеиназами привела к образованию дезоксирибонуклеозид-5'-фосфатов и их аминокислотных производных [83]. Полученные данные подтверждают предположение о том, что на 5'-конце ДНК содержится белок. Действие некоторых рестриктаз на ДНК-белковые комплексы из Ad2 [85], Ad5 [83, 86], бактериофага φ29 [90, 94, 95, 102] и инфицированных ими клеток

[91, 94, 103, 104] привело к набору олигонуклеотидов, два из которых были связаны с белком. Это говорит о том, что оба 5'-конца в дуплексе ДНК имеют ковалентно связанные белковые фрагменты. В случае ДНК аденовирусов эти белки одинаковые. Для ДНК из бактериофагов φ29 существуют разные точки зрения. Одни авторы предполагают, что на 5'-концах ДНК белки разные [90, 91], другие считают, что они одинаковы [94, 102].

Показано [104, 105], что в процессе пикирования белок от ДНК не отщепляется. Предполагается [104], что аденовирусы попадают в цитоплазму клетки в неизмененном виде и только там начинается частичная его декапсидация. В ядро клетки попадает нуклеоид (комплекс трех полипептидов и ДНК), который теряет здесь остальные белки и остается ДНК-белковый ковалентный комплекс. Недавно была установлена нуклеотидная последовательность концевых фрагментов ДНК из Ad2 [106, 107] и Ad5 [108]. Оказалось, что на 5'-концах обеих цепей ДНК находится дезоксицитидин-5'-фосфат. Таким образом, белковые молекулы присоединены ковалентными связями к 5'-дезоксицитидиловым остаткам обеих цепей ДНК. Однако тип химической связи не установлен. Авторы работы [85] обнаружили, что ДНК-белковый комплекс из аденовирусов устойчив в щелочной среде, и предполагают наличие фосфоамидной связи. Другие констатировали, что ДНК-белковый комплекс из аденовирусов [84] и бактериофагов φ29 [94, 95, 102] лабилен в щелочной среде, стабилен в гидроксиламине, и предполагают фосфодиэфирную связь.

С нашей точки зрения, наиболее корректные эксперименты проведены в работе [84], где предполагается существование фосфодиэфирной связи. Исследование модельных нуклеотидил-(5'→O)-оксиаминокислот (пептидов) показало [24], что такая фосфодиэфирная связь хорошо гидролизует в щелочной среде. Нуклеотидил-(5'→O)-тирозин в этих условиях гораздо устойчивее оксиаминокислотных аналогов [25]. Расщепление ДНК-белкового комплекса из аденовирусов в 0,1 н. NaOH позволяет предположить, что белок присоединен к ДНК с помощью фосфодиэфирной связи, в образовании которой участвует серин или треонин. Однако исследование модельных нуклеотидилоксиаминокислот (пептидов) с фосфоамидной связью между отдельными компонентами показало [19], что они тоже гидролизуются в щелочной среде (расщепляется связь между нуклеозидом и фосфором). Таким образом, лабильность связывающего узла в щелочной среде не позволяет отдать предпочтение какой-либо химической связи.

Функции белка в ДНК-белковом комплексе неизвестны. Предполагается, что белок может защищать ДНК от действия экзонуклеаз и участвовать в трансфекции [83, 89—92, 97—99]. В случае бактериофага φ29 показано [89], что действие протеиназ на ДНК-белковый комплекс сильно снижает инфекционную активность. Существует мнение [109, 110], что белок может играть структурную роль при компактизации ДНК в вирусной частице. В настоящее время известен ряд продуктов ранних генов вируса Ad2 [111, 112], которые имеют молекулярные веса, близкие к молекулярному весу белка комплекса и функции которых установлены (например, белки трансформации, белки, фиксирующие однонитевые ДНК, и др.). Предполагалось [111, 112], что белок комплекса является одним из этих белков. Однако по результатам трипсинового гидролиза оказалось, что белок комплекса не идентичен ни одному из них. Наиболее вероятно, что функции этого белка связаны с репликацией ДНК [83, 89—91, 93—99, 102, 113]. Недавно показано [102], что белок, связанный с ДНК бактериофага φ29, является белком р3, который необходим для репликации ДНК. Известно [114], что репликация большинства линейных ДНК проходит через циклизацию, как это имеет место в случае ДНК фага λ, или через конкатамеризацию, что наблюдается в случае фага Т7. Что касается аденовирусовых ДНК, то долгое время считалось [115], что ее репликация проходит через шпилькообразную структуру. Однако исследование первичной структуры концевых фрагментов аденовирусовых ДНК показало, что там

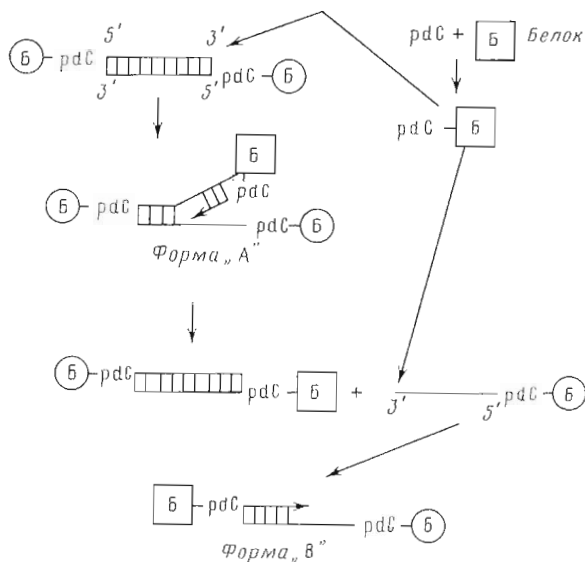


Рис. 2. Модель репликации ДНК из аденовирусов

отсутствуют палиндромы [106–108] и такой механизм репликации не имеет места [116, 117]. Предложена модель [83], которая включает в механизм репликации ДНК-белковый комплекс и не требует циклизации и конкатамеризации ДНК. Согласно этой модели, белок является инициатором репликации (рис. 2). Были выделены промежуточные репликационные комплексы на разных стадиях репликации и показано [104, 113, 118], что они содержат белковые фрагменты. Это говорит о том, что белок присоединяется к ДНК на ранней стадии репликации. Исследование начальных стадий инфекции показало [119], что белок комплекса из Ad2 является продуктом раннего гена, однако не ясно, вирусного или клетки-хозяина. Предполагается [83], что во время репликации молекула фермента узнает свободный 3'-конец ДНК в комплексе и нековалентно присоединяется к нему. Цитидин-5'-фосфат, обнаруженный на 5'-концах аденовирусных ДНК, ковалентно присоединяется к белку до или после его взаимодействия с 3'-концом ДНК. После прикрепления к ДНК нового белка дезоксицитидиловая кислота становится инициатором для ДНК-полимеразы, которая синтезирует новую цепь ДНК. Показано [113, 118], что в действительности во время репликации образуется ветвистая ДНК, имеющая двухспиральный и одноцепочечный сегменты, длина которых одинакова (форма «А»). С помощью электронной микроскопии обнаружены и частично спирализованные ДНК, соответствующие промежуточному продукту «В». Допускается [113, 118], что инициация репликации может начинаться в 3'-конце двухспиральной и одноцепочечной ДНК. Недавно показано [118, 120, 121], что репликация аденовирусных ДНК начинается с 5'-конца молекулы, что согласуется с иницирующей ролью белка.

Приведенные примеры ДНК-белковых комплексов с ковалентной связью между фрагментами не единичны. В 1975 г. было обнаружено [122], что при обработке 1M NaCl ДНК из вируса SV40 или из зараженных им клеток остаются два или три белка, прочно с ней связанных. Недавно установили [123, 124], что если выделение ДНК вируса SV40 проводить в присутствии додецилсульфата натрия, то разрывается одна из двух комплементарных нитей циклической ДНК и образуется ДНК-белковый комплекс. Электронно-микроскопическое исследование показало [124], что только около 45% ДНК с разрывами содержат присоединенный белок. Оказалось [124], что ДНК-белковый комплекс из вируса SV40 ста-

билен в щелочи, гуанидини, гидроксиламине, формамиде. Все это указывает на наличие ковалентной связи между ДНК и белком. Установлено, что белок присоединен к одному концу разрушенной цепи циклической ДНК, однако ничего не известно о том, к какому концу полинуклеотидной цепи и какой связью такое присоединение осуществляется. Практически ничего неизвестно и о функциях белка комплекса. Возможно, что белок играет определенную роль в инициации репликации ДНК, а также на ранних стадиях трансфекции [122—124].

В настоящее время описан ряд других ДНК-белковых комплексов с ковалентной связью между компонентами, которые образуются под действием белка на сверхспирализованные ДНК. Одним из таких белков является специфическая эндонуклеаза в случае релаксационного комплекса Хелинского [125—131]. Показано [132], что релаксационный комплекс из плазмид *Col E1* состоит из сверхспирализованной циклической ДНК и трех белков с молекулярными весами 60 000, 16 000 и 11 000. Эти белки в комплексе присоединены к ДНК нековалентными связями. Протеиназы или додецилсульфат натрия при действии на комплекс индуцируют релаксацию ДНК [132—134], вследствие чего разрывается ее тяжелая цепь. Молекула ДНК превращается в открытую циклическую форму, а к расщепленной тяжелой цепи остается присоединенным белок с молекулярным весом 60 000 [127, 132]. Этот комплекс устойчив к действию 0,2 М NaSCN, 8 М мочевины, 2 М LiCl, 0,2 М ацетата натрия (рН 4,6), 70% формамида, фенола, щелочи [127, 132]. Приведенные факты позволили предположить [127], а потом и доказать [132, 135], что связь в ДНК-белковых комплексах из плазмид *Col E1* и *Col E2* является ковалентной. Экзонуклеазы I и III из *E. coli* разрушают одну цепь ДНК в ДНК-белковом комплексе с 3'-конца [135]. ДНК-полимераза I катализирует полимеризацию, используя свободный 3'-конец цепи как инициатор [135]. Экзонуклеаза T7, расщепляющая полинуклеотидную цепь со свободного 5'-конца, а также ДНК-лигаза, сшивающая отдельные цепи ДНК на матрице, были неактивны по отношению к ДНК-белковым комплексам из плазмид *Col E1* и *Col E2* [135]. Все это позволило сделать вывод, что белок присоединен к 5'-концевому нуклеотиду разрушенной цепи ДНК. Белковая часть комплекса расщепляется под действием проназы, однако часть белка остается присоединенной к ДНК [135].

Природа химической связи между ДНК и белком неизвестна, однако устойчивость комплекса в щелочной среде позволила допустить [132] существование в нем фосфоамидной связи. Предполагается [134], что такая связь может «консервировать» энергию для ковалентного сшивания разрыва в ДНК. Недавно показано [136, 137], что нуклеотидил(олигонуклеотидил)-(P→N)-аминокислоты на самом деле являются активными амидами фосфорной кислоты. Это говорит о том, что энергия фосфоамидной связи в комплексе ДНК—белок может быть использована для образования фосфодиэфирной связи — сшивания разрыва в ДНК.

Биологические функции комплекса ДНК—белок также неизвестны. Предполагается [114, 135], что белок комплекса может функционировать как переключатель и быть сигналом для начала репликации. Известно, что по механизму разматывающего рулона молекула белка прикрепляется именно к 5'-концу ДНК. Возможно [114], что белки, образующие комплекс с плазмидной ДНК, аналогичны фagosым белкам-лоцманам, направляющим нуклеиновые кислоты к специфическому рецептору на клеточной поверхности или к клеточному аппарату, ответственному за репликацию, транскрипцию или трансляцию. Предполагается [138], что белок может принять участие в транспорте ДНК в процессе конъюгации. Известно [139, 140], что во время конъюгации первым переносится 5'-конец полинуклеотидной цепи. Недавно получены первые экспериментальные подтверждения [141], что ДНК-белковый комплекс из плазмид *Col E1* непосредственно связан с их транспортом.

Другой группой белков, расщепляющих сверхспирализованные ДНК, являются релаксирующие белки. В литературе их называют также ω -белками, разрывающими-сшивающими (nicking-closing) белками, ДНК-топоизомеразами. Они были выделены из ряда прокариот [142–150] и эукариот [151–164]. Все топоизомеразы превращают сверхспирализованную двухцепочечную циклическую ДНК в двухцепочечную открытую кольцевую форму и не требуют никаких кофакторов. Исключение составляет только белок, выделенный из экстрактов бактерий *E. coli*, инфицированных фагом T4 39 (—). Для проявления активности данной топоизомеразе нужен АТР. Более подробно изучен белок из *E. coli*, который способен в определенных условиях взаимодействовать и с одноцепочечной ДНК и образовывать ковалентный комплекс [165], а также превратить две комплементарные циклические однонитчатые ДНК в двухспиральную циклическую форму [166]. Топоизомеразы из *E. coli* [142, 143], *Micrococcus luteus* [144, 145], *Bacillus megaterium* [147] и *Haemophilus gallinarum* [148] очень похожи по своему действию и отчасти по структуре. Все они частично удаляют только отрицательные сверхвитки ДНК, требуют ионов магния, ингибируются 0,2 М NaCl или KCl. Однако степень релаксации в случае белков из разных источников не одинакова и можно представить следующий ряд эффективности релаксации: *E. coli* < *B. megaterium* < *M. luteus*.

Топоизомеры из *E. coli* и *M. luteus* различаются также и иммунологически [145]. Белки из *M. luteus* и *B. megaterium* имеют одну полипептидную цепь с молекулярным весом около 120 000 [144, 145, 147], белки из *E. coli* 1100 [165] и фага T4 [150] имеют также одну полипептидную цепь с молекулярным весом 110 000. Молекулярный вес белка из фага λ 40 000 [149].

Все топоизомеразы из эукариот релаксируют ДНК с отрицательным и положительным числом сверхвитков и в отличие от аналогичных белков из прокариот требуют одновалентных ионов и не требуют ионов магния. Их молекулярный вес 60 000–70 000. Топоизомеразы из дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [162] и фага λ [149] проявляют те же свойства, что и белок из высших эукариот. Предполагается [142, 147, 151, 152, 159, 167, 168], что процесс релаксации ДНК с участием белков из любых источников проходит через образование ДНК-белкового комплекса, в котором белок ковалентно присоединен к месту разрыва, как это имело место в случае ДНК некоторых плазмид. Однако большинству авторов выделить эти промежуточные продукты не удалось. Лишь в случае топоизомеразы из *E. coli* [142, 165] и печени крыс [167, 168] в щелочной среде были выделены промежуточные ДНК-белковые комплексы. Показано [165, 167], что они устойчивы в щелочи, хлориде гуанидиния, саркозиле. Это свидетельствует в пользу того, что белок присоединен к ДНК с помощью ковалентной связи. Комплекс ДНК и белка из *E. coli* расщепляется экзонуклеазой I; следовательно, белок присоединен к 5'-концу [165]. С другой стороны, ДНК-белковый комплекс из печени крыс [167, 168] не расщеплялся экзонуклеазой III, но подвергался фосфорилированию полинуклеотидкиназой, что свидетельствует в пользу присоединения белка к 3'-концу полинуклеотидной цепи ДНК. Это единственный известный случай связи такого типа.

Устойчивость комплекса ДНК-белок из печени крыс к щелочным воздействиям позволила предположить [167] фосфоамидный тип связи. Однако комплекс оказался стабильным по отношению к гидроксилламину при pH 4,75, и авторы сами отвергли предположение, сделанное ранее. Аналогичная ситуация наблюдалась и в случае ДНК-белкового комплекса из вируса SV40 [124]. Исследование свойств сложных модельных нуклеотидопептидов показало [57], что удлинение пептидного и олигонуклеотидного фрагментов в нуклеотидопептидах сильно стабилизирует фосфоамидную связь по отношению к кислоте и гидроксилламину. Таким образом,

стабильность сложных ДНК-белковых комплексов к гидроксиламину, с нашей точки зрения, не исключает наличия фосфоамидной связи.

Функции топоизомераз из прокариотических и эукариотических источников неизвестны. Предполагается, что эти белки участвуют в репликации [142, 150—152, 154, 155, 163] транскрипции [142, 146, 149, 151, 152, 154], рекомбинации [149, 152, 165, 166, 168, 169], упаковке вирусных частиц [146] и других биохимических процессах, происходящих с участием ДНК. Предполагали [155], что топоизомераза выполняет функции гистона H1, однако сейчас выяснено [170], что это различные белки.

Недавно показано [171—174], что похожим на топоизомеразы свойством обладает продукт гена А бактериофага ФХ174. Известно [175], что репликация однонитчатой циклической ДНК этого фага протекает через три стадии: ss ДНК → РФ I; РФ I → РФ II; РФ II → ss ДНК, где РФ — репликативная форма ДНК. Установлено [171], что на первой стадии репликации требуются лишь белки клетки-хозяина. Однако для превращения РФ I (сверхспирализованная двухцепочечная циклическая ДНК) в РФ II требуется белок гена А самого бактериофага. Недавно белок А выделили и показали, что он разрывает (+)-цепь вирусной двухспиральной ДНК (РФ I) в цистроне А [171—174]. При этом белок, молекулярный вес которого 59 000 [174], остается присоединенным к ДНК, образуя ДНК-белковый комплекс (РФ II — белок А). Такой комплекс стабилен к действию додецилсульфата натрия, саркозила, 0,25 М NaOH и легко гидролизуются протеиназами [171], что позволило предположить наличие ковалентной связи. Показано [172, 173], что белок А разрывает вирусную цепь ДНК РФ I и присоединяется между нуклеотидами 4297 и 4298. Этот процесс специфичен только для РФ I фага ФХ174 и не имеет места в случае РФ I фага fd или циклических двухспиральных ДНК фага РМ2 и плазмид Col E1 [88]. ДНК-полимераза I [171] и полинуклеотидкиназа [173] были неактивны по отношению к ДНК-белковому комплексу. Экзонуклеаза III частично гидролизовала ДНК с 3'-конца [171]. Комплекс служил субстратом для терминальной трансферазы [173]. Это позволило авторам сделать вывод [171, 173], что белок А присоединяется к 5'-концу расщепленной вирусной цепи ДНК, а 3'-конец этой цепи свободен. Природа химической связи между ДНК и белком А неизвестна. Интересно, что белок А является первым релаксирующим белком и вообще первым белком ковалентных комплексов нуклеиновой кислоты с белком, о функциях которого известно довольно много. Показано [172, 173], что он является полифункциональным ферментом, участвующим в инициации репликации и обуславливающим вместе с другими белками сам процесс репликации. В конце цикла репликации белок А разрывает и сшивает полинуклеотидную цепь с образованием ss ДНК (рис. 3). Установлено [172, 173], что этот фермент узнает инициаторную часть сверхспирализованной РФ I и делает разрыв в вирусной цепи ДНК, ковалентно присоединяясь к ее 5'-концу. Предполагается [172], что белок А имеет два активных центра или состоит из двух субъединиц, одна из которых присоединяется к ДНК. Далее он в комплексе с расплетающим белком, ДНК-полимеразой III и белком, фиксирующим однонитевую ДНК, обуславливает дальнейший процесс репликации. В окончательном этапе одного цикла репликации белок А разрывает и сшивает полинуклеотидную цепь с образованием ss ДНК.

Недавно из бактерий *E. coli* [176—185] и *Micrococcus luteus* [186] выделен новый фермент — ДНК-гираза. Этот фермент имеет две пары субъединиц с молекулярными весами 100 000—105 000 и 90 000—95 000 [184, 185] в случае *E. coli* и 115 000 и 97 000 в случае *Micrococcus luteus* [186]. ДНК-гираза катализирует АТР-зависимое превращение двухспиральной кольцевой ДНК в ДНК, содержащую отрицательное число сверхвитков. Оказалось, что в отсутствие АТР ДНК-гираза *in vitro* [177, 180] и *in vivo* [178] работает как релаксирующий белок и расщепляет сверхспирализо-

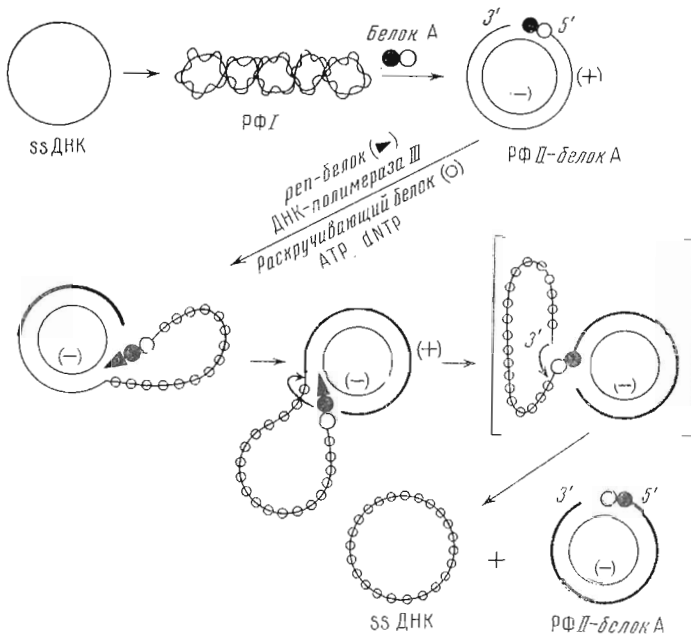


Рис. 3. Модель репликации ДНК бактериофага ϕ X174; РФ — репликативная форма ДНК

ванную ДНК во многих местах. Авторы предполагают, что, как и в случае других релаксирующих белков, образуется ДНК-белковый комплекс с ковалентной связью между компонентами. На основании того что полинуклеотидкиназа не фосфорилирует ДНК в ДНК-белковом комплексе, авторы делают вывод, что фермент ковалентно присоединен к 5'-концу ДНК. 3'-Конец ДНК свободен, так как ДНК-полимераза I из *E. coli* работает с данной матрицей. Интересно, что ДНК-гираза в основном расщепляет цепь ДНК между остатками тимидина и гуанозина [180]. Более подробных данных о структуре этого комплекса нет. Важным свойством фермента является то, что он релаксирует ДНК с положительным числом сверхвитков. Всем другим известным релаксирующим белкам из прокариот субстратами служат ДНК с отрицательным числом сверхвитков. Другие авторы недавно выделили ДНК-гиразу, которая имела только релаксирующую активность [183]. По-видимому, это только компонент ДНК-гиразы, ответственный за релаксацию сверхспирализованных ДНК. Показано, что основные функции ДНК-гиразы связаны с репликацией [176, 177, 181, 182, 187], транскрипцией [182, 184, 188—191] и рекомбинацией [176, 192, 193] двухспиральных циклических ДНК.

Обнаружение топоизомераз и похожих на них эндонуклеаз в микроорганизмах, дрожжах, животных и растениях позволяет думать, что они занимают важное место в биохимии ДНК. Однако в большинстве случаев неизвестны ни функции этих белков, ни тонкая структура ДНК-белковых комплексов, которые образуются во время их действия.

III. РНК-белковые комплексы

В большинстве известных рибонуклеопротеидов белки соединены с РНК нековалентными связями. Однако было обнаружено, что РНК из дрожжей [68, 194—198], поджелудочной железы телят [199—201], печени крысы [68], *E. coli* [202, 203], шелкоотделительной железы тутового шелкопряда [204] содержит прочно связанные пептиды. Исследования таких РНК-пептидов, проведенные до 1963 г., суммированы в обзоре [205].

В данном обзоре будут обсуждаться лишь данные, полученные после 1962 г.

Наиболее детально изучены РНК-белковые комплексы из дрожжей, *E. coli* и ряда вирусов. Было показано [198], что в случае дрожжей белок присоединяется к остатку рибозы РНК, по-видимому, с помощью сложной эфирной связи. Точная структура РНК-белкового комплекса не установлена, ничего не говорится о функциях ковалентно присоединенного белка. Кислотный гидролиз (6 н. HCl, 100° С, 24 ч) рРНК-пептидов из *E. coli* показал [206], что в них присутствуют 15—17 разных аминокислот. Интересно, что пептиды, связанные с РНК, характеризуются довольно высоким содержанием дикарбоновых и оксааминокислот. Похожий аминокислотный состав обнаружен и в РНК-пептидах из поджелудочной железы [206]. Инкубация их с частично очищенным препаратом яда гадюки, имеющим высокую фосфодиэстеразную и 5'-нуклеотидазную активности, привела к смеси нуклеотидопептидов и нуклеозидов [206]. Окисление нуклеотидопептидов периодатом натрия с последующим воздействием циклогексилamina вызывало отщепление N-фосфопептида. Аналогичное соединение было получено и после щелочного гидролиза (1 н. КОН, 100° С, 20 мин) нуклеотидопептида [206]. Такие N-фосфопептиды были обнаружены в рРНК из *E. coli* и в высокополимерной суммарной панкреатической РНК. Таким образом, было показано, что в этих природных нуклеотидопептидах имеется фосфоамидная связь между отдельными фрагментами. Обнаружение в щелочных гидролизатах нуклеотидил-(5'→N)-пептидов и нуклеотидил-(3'→N)-пептидов позволило предположить [206], что пептиды присоединены к межнуклеотидному фосфору с помощью фосфоамидной связи. Установлено [206], что 2'-гидроксильная группа у фосфоамидного центра блокирована, что обуславливает его стабильность в щелочной среде. Функции пептидов неизвестны. Возможно, что ковалентное связывание пептидов с РНК большой субчастицы рибосом является одним из способов ее химической модификации, контролирующим процесс образования биологически активных рибосом [206]. Пептиды присоединяются к рРНК на стадии биосинтеза рибосом, и этот процесс ингибируется хлорамфениколом [204, 206].

Недавно РНК-белковые комплексы были выделены из полиовирусов типа 1 [207—212], вирусов ящура [213], энцефаломиокардита [214—216], вируса мозаики коровьего гороха [217, 218], калицивируса [219] и вируса кольцевой пятнистости табака [220]. Предполагается [215], что аналогичные комплексы образуются в полиовирусах типа 2 и в риновирусах. По-видимому, такие ковалентные комплексы свойственны всем пикорнавирусам. Седimentация в сахарозном градиенте в 0,5 М NaCl, нагревание при 100° С в присутствии додецилсульфата натрия с последующим центрифугированием в сахарозном градиенте в 80% диметилсульфоксиде [208, 210, 217], седimentация в сахарозном градиенте, содержащем додецилсульфат натрия [213, 214], экстракция смесью фенол — хлороформ — изоамиловый спирт, 25 : 24 : 1 [210] или фенол — хлороформ [213], действие фенола при 45° С [214, 217], нагревание в течение 1 мин при 70° С в 100% формамиде [213, 220] или 1 мин при 100° С в смеси 5% додецилсульфата натрия, 5% меркаптоэтанола и 2,5 М мочевины [213] и другие методы денатурации не разрушали РНК-белковые комплексы. Проназа полностью разрушила белковую часть комплекса [208, 210, 213—216, 218, 220]. Все это говорило о присоединении белка к РНК во всех вышеуказанных вирусах ковалентной связью.

Интересно, что растительные вирусы мозаики коровьего гороха и кольцевой пятнистости табака имеют по две разные РНК, каждая из которых содержит ковалентно присоединенные белки. Литературные данные о молекулярных весах белков комплекса не совпадают. В случае полиовируса типа 1 одни авторы установили молекулярный вес 12 000 [211], другие — менее 7000 [208]. Молекулярный вес белка из энцефаломиокардита

8000—10 000 [215], 4000 [214] или 7000 [216], из ящурного вируса — 4000 [213], из калицивируса — 10 000 [219], из вируса мозаики коровьего гороха — 5000 [217], из вируса кольцевой пятнистости табака — 4000 [220]. Разница в молекулярных весах этих белков, вероятно, объясняется тем, что для их определения отдельными авторами использовались разные методы. Недавно было показано [208, 215], что белки РНК-белковых комплексов из полиовируса типа 1 и энцефаломиокардита разные и что они закодированы в геноме самих вирусов.

Полинуклеотидкиназа не фосфорилировала РНК-белковый комплекс полиовируса [208], а гидролиз этого комплекса рибонуклеазой T_2 [208, 209, 221] или смесью рибонуклеаз A , T_1 и T_2 [210] привел к комплексу белок— pUp . Обработка последнего фосфодиэстеразой змеиного яда приводила к образованию pUp и белка [208—210]. При инкубации РНК-белкового комплекса только с рибонуклеазой T_1 обнаруживался комплекс олигонуклеотид—белок, последовательность нуклеотидов в котором оказалась $pUpUpArArArArCpArGp$ [209, 210]. Все эти факты указывают на то, что в случае полиовируса белок присоединен к 5'-концевому остатку уридин-5'-фосфата РНК. Ферментативным гидролизом и анализом гидролизата с помощью ионообменной хроматографии и электрофореза на бумаге установлено [213, 214, 216, 218], что и в случае РНК-вирусов ящура, энцефаломиокардита, мозаики коровьего гороха белок присоединен к 5'-концу полинуклеотидной цепи. Показано [215—218], что в случае РНК-белковых комплексов из энцефаломиокардита и мозаики коровьего гороха белок тоже присоединен к 5'-концевому нуклеотиду, которым является UMP. Тип нуклеотида, присоединенного к белку в случае РНК-вирусов ящура, калицивируса и вируса кольцевой пятнистости табака, неизвестен.

До последнего времени не было никаких данных о природе химической связи между белком и РНК вирусов. Недавно выяснили [210, 212], что в случае полиовируса белок присоединяется к РНК с помощью фосфодиэфирной связи, в образовании которой участвует гидроксильная группа тирозина. По-видимому [211, 212], этот остаток тирозина в белке единственный. Фосфодиэфирная связь предполагается в случае энцефаломиокардитного вируса [215, 216] и в случае вируса мозаики коровьего гороха [218]. Установлено [212, 216], что фосфодиэфирная связь в уридиллипептидах, полученных после гидролиза РНК-белкового комплекса с помощью протеиназ и нуклеаз, довольно устойчива в щелочной среде. Вывод об устойчивости фосфодиэфирной связи вытекает также из исследования гидролитической устойчивости модельного этилового эфира уридил- $(5' \rightarrow O)$ - N -бензил- L -тирозила [25]. Таким образом, стабильность природных нуклеотидопептидов в щелочной среде не отрицает существования фосфодиэфирной связи и, следовательно, заключение о наличии фосфоамидной связи в щелочностабильных комплексах [76, 85, 124, 132, 167, 206] нельзя считать абсолютно корректным.

Интересно, что мРНК полиовируса не имеет ковалентно присоединенного белка [207, 208, 210, 222], хотя во время репликации каждая вновь образующаяся РНК и даже (—)-цепь РНК имеет белок [209, 223]. Предполагалось [208, 209], что до попадания РНК в рибосому белок или нуклеотидил (олигонуклеотидил)—белок должен отщепиться от РНК-белкового комплекса вириона. Недавно было показано [209, 210, 222, 224], что последовательность $pUpUpArArArArCpArGp$ имеется на 5'-конце РНК вириона и в его мРНК. Значит, во время образования мРНК от РНК-белкового комплекса полиовируса отщепляется только белок. Недавно обнаружена ферментативная активность, которая расщепляет связь между белком и РНК полиовируса [225]. Это новый тип процессинга вирусных макромолекул. Присутствие белка в геноме полиовируса является, по-видимому, единственным отличием его от мРНК. Предполагается, что белок, присоединенный к РНК полиовируса, участвует в инициации репликации

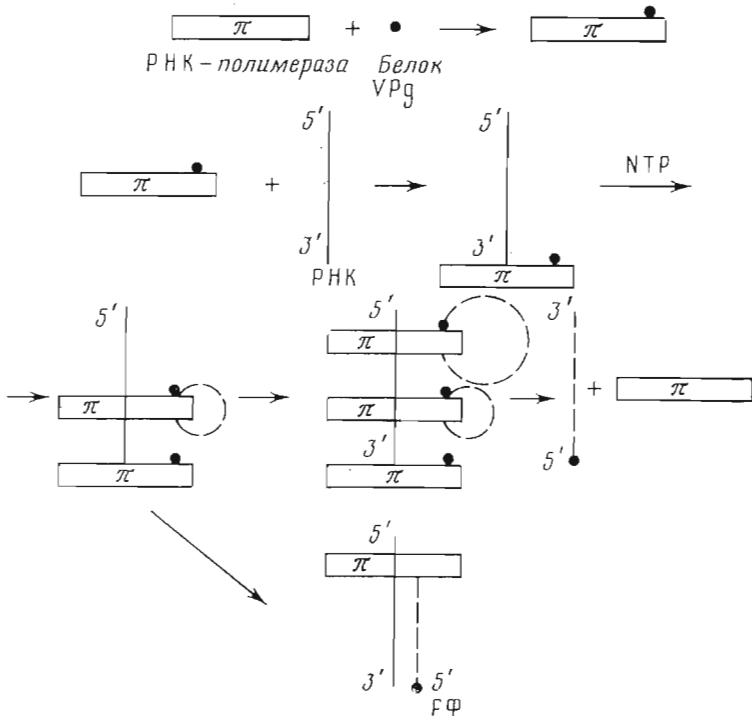


Рис. 4. Модель репликации полиовирусной РНК; РФ — репликативная форма РНК

[209, 210, 223, 224] и в морфогенезе [208, 210, 211] вирусных частиц. Предложена модель репликации РНК полиовируса с участием белкового комплекса на стадии инициации [209] (рис. 4). Предполагается, что полимеразы II неактивны, пока она не присоединит белок VPg. Комплекс полимеразы и этого белка, названный репликазой, присоединяется к 3'-концу (+)- или (-)-РНК и обуславливает инициацию репликации. Далее идет синтез одновременно нескольких цепей. После завершения полимеризации полимеразы освобождается и, по-видимому, вновь может присоединиться новый VPg-белок и повторить цикл, а VPg-белок остается связан с 5'-концом РНК. Возможно, что после инициации белок диссоциирует от полимеразы. В данном случае образуется репликативная форма (РФ). Более вероятно, что иницирующую роль играет не чистый белок VPg, а его комплекс с нуклеотидом или олигонуклеотидом [223, 224]. Возможно, что белок-нуклеотидные праймеры участвуют в инициации репликации линейных ДНК и РНК хромосом. Установлено [210, 222], что белок комплекса не нужен для трансфекции: действие протеиназа на РНК-белковый комплекс не снижает инфекционной активности вируса. С другой стороны, известно, что инфекционной активностью обладает и мРНК полиовируса, не имеющая ковалентно связанного белка [210] и не являющаяся предшественником полиовирусов [208]. Создается впечатление [210, 222], что белок, присоединенный к РНК, нужен для формирования вирусных частиц. Функции белков в случае РНК-белковых комплексов из других вирусов неизвестны. Показано [218], что в случае вируса мозаики коровьего гороха белок не нужен для инфекции и для трансляции *in vitro*. Наоборот, в случае вируса кольцевой пятнистости табака белок комплекса нужен для инфекции [220]. Предполагается [210], что присоединение белка к РНК является общим механизмом инициации биосинтеза многих вирусных РНК. Ковалентный комплекс между белком и вирусной РНК представляет собой новое явление в молекулярной биологии РНК вирусов [208].

Заклучение

Из обзора литературных данных по ковалентным комплексам нуклеотидов и нуклеиновых кислот с белками следует, что эти соединения широко распространены в природе. Они образуются при действии ряда ферментов, при формировании структуры и функционировании некоторых ДНК и РНК. Однако биологические функции природных нуклеотидопептидов во многих случаях неизвестны. Мало данных и об их структуре. Почти во всех работах критерием ковалентной связи между компонентами является устойчивость комплексов по отношению к разным денатурирующим агентам. В действительности прямым доказательством наличия ковалентной связи является выделение нуклеотидааминокислоты (пептида) — «узла» связи нуклеотид—белок.

Для установления природы химической связи между нуклеотидом или нуклеиновой кислотой и белком многие авторы расщепляют комплексы разными химическими агентами и полученные данные сравнивают с аналогичными данными, известными для модельных соединений. Такой подход нельзя считать корректным, так как известно, что усложнение молекулы меняет ее свойства. Лучшим путем является ферментативный или химический гидролиз комплекса до простейших нуклеотидааминокислот (пептидов) и дальнейшая их характеристика. Интерпретация полученных результатов должна быть очень аккуратной, так как во время выделения и обработки комплексов может иметь место миграция компонентов с одной функциональной группы на другую.

ЛИТЕРАТУРА

1. Edmondson D. E., Singer T. P. (1976) *FEBS Lett.*, **64**, 255—265.
2. Steenkamp D. J., McIntire W., Kenney W. C. (1978) *J. Biol. Chem.*, **253**, 2818—2824.
3. Kenney W. C., Edmondson D. E., Singer T. P., Steenkamp D. J., Schabort J. C. (1976) *Biochemistry*, **15**, 4931—4934.
4. Mohler H., Bruhmuller M., Decker K. (1972) *Eur. J. Biochem.*, **29**, 152—155.
5. Gellert M. (1967) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **57**, 148—155.
6. Weiss R., Richardson C. C. (1967) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **57**, 1021—1028.
7. Olivera B. M., Lehman I. R. (1967) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **57**, 1426—1433.
8. Geffter M. L., Becker A., Hurwitz J. (1967) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **58**, 240—247.
9. Cozzarelli N. R., Melechen N. E., Jovin T. M., Kornberg A. (1967) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **28**, 578—586.
10. Газнев А. И. (1974) *Успехи совр. биологии*, **78**, 171—187.
11. Soderhall S., Lindahl T. (1976) *FEBS Lett.*, **67**, 1—8.
12. Lehman I. R. (1974) *Science*, **186**, 790—797.
13. Little J. W., Zimmerman S. B., Oshinsky C. K., Gellert M. (1967) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **58**, 2004—2011.
14. Soderhall S., Lindahl T. (1973) *J. Biol. Chem.*, **248**, 672—675.
15. Gumpert R. I., Lehman I. R. (1971) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **68**, 2559—2563.
16. Рлбова Т. С., Шабарова З. А., Прокофьев М. А. (1965) *Докл. АН СССР*, **150**, 1373—1374.
17. Юодка В. А., Недбай В. К., Шабарова З. А., Прокофьев М. А. (1969) *Биохимия*, **34**, 849—852.
18. Shabarova Z. A. (1970) in: *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology* (Davidson J. N., Cohn W. E., eds), v. 10, pp. 145—182, Acad. Press, N. Y.
19. Юодка В. А., Обручников И. В., Недбай В. К., Шабарова З. А., Прокофьев М. А. (1969) *Биохимия*, **34**, 647—654.
20. Silber R., Malathi V. G., Hurwitz J. (1972) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **69**, 3009—3013.
21. Cranston J. W., Silber R., Malathi V. G., Hurwitz J. (1974) *J. Biol. Chem.*, **249**, 7447—7456.
22. Kaufmann G., Littauer U. Z. (1974) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **71**, 3741—3745.
23. Юодка В. А., Спецкуте М. А., Янушоните Л. М., Маркуцкас А. Я. (1979) *Биохимия*, **44**, 599—604.
24. Юодка В. А., Савельев Е. П., Шабарова З. А., Прокофьев М. А. (1968) *Биохимия*, **33**, 907—915.
25. Юодка В. А., Саснаускаене С. И. (1974) *Химия природн. соедин.*, 216—220.
26. Stadtman E. R., Ginsburg A. (1974) in: *The Enzymes* (Boyer P. D., ed.), v. 10, pp. 755—807, Acad. Press, N. Y.
27. Meister A. (1974) in: *The Enzymes* (Boyer P. D., ed.), v. 10, pp. 699—754, Acad. Press, N. Y.

28. Wedler F. O., Carfi J., Ashour A. E. (1976) *Biochemistry*, **15**, 1749–1755.
29. Kleinschmidt J. A., Kleiner D. (1978) *Eur. J. Biochem.*, **89**, 51–60.
30. Iqbal K., Ottaway J. M. (1970) *Biochem. J.*, **119**, 145–156.
31. Iqbal K., Wu C. (1971) *Enzyme*, **12**, 553–560.
32. Stamatiadou M. N. (1972) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **47**, 485–490.
33. Tate S. S., Leu F. Y., Meister A. (1972) *J. Biol. Chem.*, **247**, 5312–5321.
34. Tiemeier D. C., Milman G. (1972) *J. Biol. Chem.*, **247**, 2272–2277.
35. Kanamori T., Matsumoto H. (1972) *Arch. Biochem. and Biophys.*, **152**, 404–412.
36. Woolfolk C. A., Shapiro B. M., Stadtman E. R. (1966) *Arch. Biochem. and Biophys.*, **116**, 177–192.
37. Shapiro B. M., Kingdon H. S., Stadtman E. R. (1967) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **58**, 642–649.
38. Shapiro B. M., Stadtman E. R. (1968) *J. Biol. Chem.*, **243**, 3769–3771.
39. Wohlhueter R. M. (1971) *Eur. J. Biochem.*, **21**, 575–581.
40. Caban C. E., Ginsburg A. (1976) *Biochemistry*, **15**, 1569–1580.
41. Brown M. S., Segal A., Stadtman E. R. (1971) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **68**, 2949–2953.
42. Adler S. P., Purich D., Stadtman E. R. (1975) *J. Biol. Chem.*, **250**, 6264–6272.
43. Mangum J. H., Magni G., Stadtman E. R. (1973) *Arch. Biochem. and Biophys.*, **158**, 514–525.
44. Stadtman E. R., Cohen G. N., Lebras G., DeRobichon-Szulmajster H. (1961) *J. Biol. Chem.*, **236**, 2033–2038.
45. Truffa-Bachi P., van Rapenbusch R., Janin J., Gros C., Cohen G. N. (1968) *Eur. J. Biochem.*, **5**, 73–80.
46. Truffa-Bachi P., Cohen G. N. (1966) *Biochim. et biophys. acta*, **113**, 531–541.
47. Niles E. G., Westhead E. W. (1973) *Biochemistry*, **12**, 1715–1722.
48. Niles E. G., Westhead E. W. (1973) *Biochemistry*, **12**, 1723–1729.
49. Kalckar H. M., Braganca B., Munch-Petersen (1953) *Nature*, **172**, 1038.
50. Kurahashi K. (1957) *Science*, **125**, 114–115.
51. Pazur J. H., Shadaksharaswamy M. (1961) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **5**, 130–134.
52. Maxwell E. S., Kalchar H. M., Burton R. M. (1955) *Biochim. et biophys. acta*, **18**, 444–445.
53. Williams V. P. (1978) *Arch. Biochem. and Biophys.*, **191**, 182–191.
54. Wong L. J., Frey P. A. (1974) *J. Biol. Chem.*, **249**, 2322–2324.
55. Wong L. J., Sheu K. F. R., Lee S.-L., Frey P. A. (1977) *Biochemistry*, **16**, 1010–1016.
56. Yang S.-L. L., Frey P. A. (1979) *Biochemistry*, **18**, 2980–2984.
57. Juodka B., Kirveliene V., Lioranchaite L. (1978) *Nucl. Acids Res.*, Sp. publ. No. 4, s. 231–234. Juodka B., Kirveliene V., Lioranchaite L. (1979) *J. Carbohydr., Nucleosides, Nucleotides*, **6**, 333–357.
58. Kelly S. J., Butler L. G. (1977) *Biochemistry*, **16**, 1102–1104.
59. Landt M., Butler L. G. (1978) *Biochemistry*, **17**, 4130–4135.
60. Razzell W. E., Khorana H. G. (1961) *J. Biol. Chem.*, **236**, 1144–1149.
61. Козлов И. А., Ледисва Р. К. (1973) *Биохимия*, **38**, 1115–1125.
62. Краевский А. А., Киселев Л. Л., Готтик Б. П. (1973) *Молекулярн. биология*, **7**, 769–775.
63. Chelala C. A., Hirschbein L., Torres H. N. (1971) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **68**, 152–154.
64. Seifert W., Rabussay D., Zillig W. (1971) *FEBS Lett.*, **16**, 175–179.
65. Белозерский А. Н. (1936) *Биохимия*, **1**, 255–259.
66. Mirsky A. E., Ris H. (1950) *J. Gen. Physiol.*, **34**, 475–486.
67. Monty K. J., Dounce A. L. (1958) *J. Gen. Physiol.*, **41**, 595–608.
68. Potter J. L., Dounce A. L. (1956) *J. Amer. Chem. Soc.*, **78**, 3078–3082.
69. Balis M. E., Salser J. S., Elder A. (1964) *Nature*, **203**, 1170–1171.
70. Olenick J., Pahn F. (1964) *Biochim. et biophys. acta*, **87**, 535–541.
71. Champagne M., Mazen A., Pouet J. (1964) *Biochim. et biophys. acta*, **87**, 682–691.
72. Webb S. J. (1967) *Can. J. Microbiol.*, **13**, 57–68.
73. Salser J. S., Balis M. E. (1968) *Cancer Res.*, **28**, 596–600.
74. Salser J. S., Balis M. E. (1969) *J. Biol. Chem.*, **244**, 822–828.
75. Бендик А., Розенкранц Ф. (1965) *Нуклеиновые кислоты*, с. 245–257, «Мир», М.
76. Дрыгин Ю. Ф., Богданов А. А., Прокофьев М. А. (1966) *Химия природн. соедин.*, **218**.
77. Кривцов Г. Г., Богданов А. А. (1970) *Молекулярн. биология*, **4**, 422–427.
78. Дрыгин Ю. Ф. (1971) *Канд. дис. «Выделение и изучение комплексов ДНК с пептидами и бактериальной мембраной»*, МГУ.
79. Ikeda H., Tomizawa J. (1965) *J. Mol. Biol.*, **14**, 110–119.
80. Hershey H. V., Werner D. (1976) *Nature*, **262**, 148–150.
81. Robinson A. J., Younghusband H. B., Bellett A. J. D. (1973) *Virology*, **56**, 54–69.
82. Roberts R., Arrand J. R., Keller W. (1974) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **71**, 3829–3833.
83. Rekosh D. M. K., Russell W. C., Bellett A. J. D., Robinson A. J. (1977) *Cell*, **11**, 283–295.
84. Carusi E. A. (1977) *Virology*, **76**, 380–395.

85. Padmanabhan R., Padmanabhan V. (1977) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **75**, 955-964.
86. Sharp P. A., Moore C., Haverty J. L. (1976) *Virology*, **75**, 442-456.
87. Estes M. K. (1978) *J. Virology*, **25**, 917-922.
88. Ortin J., Vinuela E., Salas M., Vasquez C. (1971) *Nature*, **234**, 275-277.
89. Hirokawa H. (1972) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **69**, 1555-1559.
90. Ito J., Kawamura F., Yanofsky S. (1976) *Virology*, **70**, 37-51.
91. Harding N. E., Ito J. (1976) *Virology*, **73**, 389-401.
92. Anderson D. L., Mosharafa E. T. (1968) *J. Virology*, **2**, 1185-1190.
93. Yehle C. O. (1978) *J. Virology*, **27**, 776-783.
94. Harding N. E., Ito J., David G. S. (1978) *Virology*, **84**, 279-292.
95. Ito J. (1978) *J. Virology*, **28**, 895-904.
96. Robinson A. J., Bellett A. J. D. (1974) *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **39**, 523-531.
97. Kawamura F., Ito J. (1977) *Virology*, **83**, 233-245.
98. Arwert F., Venema G. (1974) *J. Virology*, **13**, 584-589.
99. Arnberg A. C., Arwert F. (1976) *J. Virology*, **18**, 783-784.
100. Van der Eb A. J., van Kerstern L. W. (1969) *Biochim. et biophys. acta*, **129**, 441-444.
101. Green M., Pina M., Kimes R., Wensink P. C., Mac Hattie L. A., Thomas C. A. (1967) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **57**, 1302-1309.
102. Salas M., Mellado R. P., Vinuela E., Sogo J. M. (1978) *J. Mol. Biol.*, **119**, 269-291.
103. Girard M., Bouche J. P., Marty L., Revet B., Berthelot N. (1977) *Virology*, **83**, 34-55.
104. Van Wielink P. S., Naaktgeboren N., Sussenbach J. S. (1979) *Biochim. et biophys. acta*, **563**, 89-99.
105. Mirza M. A. A., Weber J. (1979) *J. Virology*, **30**, 462-471.
106. Steenbergh P. H., Sussenbach J. S., Roberts R. J., Jansz H. S. (1975) *J. Virology*, **15**, 268-272.
107. Arrand J. R., Roberts R. J. (1979) *J. Mol. Biol.*, **128**, 577-594.
108. Steenbergh P. H., Maat J., van Ormondt H., Sussenbach J. S. (1977) *Nucleic Acids Res.*, **4**, 4371-4389.
109. Brown D. T., Westpal M., Burlingham B. T., Winterhof U., Doerfler W. (1975) *J. Virology*, **16**, 366-387.
110. Corden J., Engelking H. M., Pearson G. D. (1976) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **73**, 401-404.
111. Harter M. L., Lewis J. B., Anderson C. W. (1979) *J. Virology*, **31**, 823-835.
112. Green M., Wold W. S. M., Brackmann K. H., Cartas M. A. (1979) *J. Virology*, **31**, 836-840.
113. Robinson A. J., Bodnar J. W., Coombs D. H., Pearson G. D. (1979) *Virology*, **96**, 143-158.
114. Kornberg A. (1974) *DNA synthesis*, W. H. Freeman and Company, USA.
115. Cavalier-Smith T. (1974) *Nature*, **250**, 467-470.
116. Stillman B. W., Bellett A. J. D., Robinson A. J. (1977) *Nature*, **269**, 723-725.
117. Sussenbach J. S., Kuijk M. G. (1978) *Nucleic Acids Res.*, **5**, 1289-1295.
118. Lechner R. L., Kelly T. J. (1977) *Cell*, **12**, 1007-1020.
119. Yamashita T., Arens M., Green M. (1979) *J. Virology*, **30**, 497-507.
120. Horwitz M. S. (1976) *J. Virology*, **19**, 307-315.
121. Weingartner B., Warnacker E. L., Tolun A., Pettersson U. (1976) *Cell*, **9**, 259-268.
122. Griffith J., Dieckmann M., Berg P. (1975) *J. Virology*, **15**, 167-172.
123. Kasamatsu H., Wu M. (1976) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **68**, 927-936.
124. Kasamatsu H., Wu M. (1976) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **73**, 1945-1949.
125. Bazaral M., Helinski D. R. (1968) *J. Mol. Biol.*, **36**, 185-194.
126. Clewell D. B., Helinski D. R. (1969) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **62**, 1159-1166.
127. Blair D. G., Helinski D. R. (1975) *J. Biol. Chem.*, **250**, 8785-8789.
128. Kline B. C., Helinski D. R. (1971) *Biochemistry*, **10**, 4975-4980.
129. Morris C. F., Hershberger C. C., Rownd R. (1973) *J. Bacteriology*, **114**, 300-308.
130. Novick R. (1976) *J. Bacteriology*, **127**, 1177-1187.
131. Womble D. D., Rownd R. H. (1977) *J. Bacteriology*, **131**, 145-152.
132. Lovett M. A., Helinski D. R. (1975) *J. Biol. Chem.*, **250**, 8790-8795.
133. Clewell D. B., Helinski D. R. (1970) *Biochemistry*, **9**, 4428-4440.
134. Blair D. G., Clewell D. B., Sherratt D. J., Helinski D. R. (1971) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **68**, 210-214.
135. Guiney D. G., Helinski D. R. (1975) *J. Biol. Chem.*, **250**, 8796-8803.
136. Shabarova Z. A., Prokofiev M. A. (1970) *FEBS Lett.*, **11**, 237-240.
137. Юодка Б. А., Саснаукене С. И., Мешкенайте В. И., Кадзяукене К. В. (1976) *Ж. общ. химии*, **46**, 586-590.
138. Varnek D., Rupp W. D. (1970) *J. Mol. Biol.*, **53**, 287-303.
139. Ohki M., Tomizawa J. I. (1968) *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **33**, 651-658.
140. Rupp W. D., Ihler G. (1968) *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **33**, 647-650.
141. Warren G. J., Twigg A. J., Sherratt D. J. (1978) *Nature*, **274**, 259-261.

142. Wang J. C. (1971) *J. Mol. Biol.*, **55**, 523-533.
143. Burrington M. G., Morgan A. R. (1976) *Can. J. Biochem.*, **54**, 301-306.
144. Hecht R., Thielmann H. W. (1977) *Nucleic Acids Res.*, **4**, 4235-4247.
145. Kung V. T., Wang J. C. (1977) *J. Biol. Chem.*, **252**, 5398-5402.
146. Bauer W. R., Ressler E. C., Kates J., Patzke J. V. (1977) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **74**, 1841-1845.
147. Burrington M. G., Morgan A. R. (1978) *Can. J. Biochem.*, **56**, 123-128.
148. Shishido K., Ando T. (1979) *Biochim. et biophys. acta*, **563**, 261-265.
149. Kikuchi Y., Nash H. A. (1979) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **76**, 3760-3764.
150. Stetler G. L., King G. J., Huang W. M. (1979) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **76**, 3737-3741.
151. Champoux J. J., Dulbecco R. (1972) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **69**, 143-146.
152. Baase W. A., Wang J. C. (1974) *Biochemistry*, **13**, 4299-4303.
153. Pulleyblank D. E., Morgan A. R. (1975) *Biochemistry*, **14**, 5205-5209.
154. Vosberg H. P., Grossman L. I., Vinograd J. (1975) *Eur. J. Biochem.*, **55**, 79-83.
155. Vosberg H. P., Vinograd J. (1976) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **68**, 456-464.
156. Tang D. (1978) *Nucleic Acids Res.*, **5**, 2861-2875.
157. Bina-Stein M., Vogel T., Singer D., Singer M. (1975) *J. Biol. Chem.* **251**, 7365-7366.
158. Keller W. (1975) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **72**, 2550-2554.
159. Champoux J. J. (1976) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **73**, 3488-3491.
160. Champoux J. J., McConaughy B. (1976) *Biochemistry*, **15**, 4638-4642.
161. Mattoccia E., Attardi D., Tocchini-Valentini G. (1976) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **4551-4554**.
162. Durnford J. M., Champoux J. J. (1978) *J. Biol. Chem.*, **253**, 1086-1089.
163. Rosenberg B., Ungers G., Deutsch J. (1976) *Nucl. Acids Res.*, **3**, 3305-3311.
164. Liu L. F., Depew R. E., Wang J. C. (1976) *J. Mol. Biol.*, **106**, 439-452.
165. Depew R. E., Liu L. F., Wang J. C. (1978) *J. Biol. Chem.*, **253**, 511-518.
166. Kirkegaard K., Wang J. C. (1978) *Nucl. Acids Res.*, **5**, 3811-3820.
167. Champoux J. J. (1977) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **74**, 3800-3804.
168. Champoux J. J. (1978) *J. Mol. Biol.*, **118**, 441-446.
169. Holloran W. K., Wiegand R., Hoessli C., Radding C. M. (1975) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **72**, 2394-2398.
170. Удрицов И. М., Нактинис В. И., Колчинский А. М., Мирзабеков А. Д. (1977) *Докл. АН СССР*, **234**, 1474-1477.
171. Ikeda J. E., Yudelevich A., Hurwitz J. (1976) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **73**, 2669-2673.
172. Eisenberg S., Griffith J., Kornberg A. (1977) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **74**, 3198-3202.
173. Langeveld S. A., van Mansfeldt A. D. M., Baas P. D., Jansz H. S., van Arkel G. A., Weisbeek P. J. (1978) *Nature*, **271**, 417-420.
174. Eisenberg S., Kornberg A. (1979) *J. Biol. Chem.*, **254**, 5328-5332.
175. Sinsheimer R. L. (1968) *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, **8**, 115-169.
176. Gellert M., Mizuuchi K., O'Dea M. H., Nash H. A. (1976) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **73**, 3872-3876.
177. Gellert M., Mizuuchi K., O'Dea M. H., Itoh T., Tomizawa J. I. (1977) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **74**, 4772-4776.
178. Snyder M., Drlita K. (1979) *J. Mol. Biol.*, **131**, 287-302.
179. Denhardt D. T. (1979) *Nature*, **280**, 196.
180. Morrison A., Cozzarelli N. R. (1979) *Cell*, **17**, 175-184.
181. Mariani K. J., Ikeda J. E., Schlagman S., Hurwitz J. (1977) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **74**, 1965-1968.
182. De Wynaert M. A., Hinkle D. C. (1979) *J. Virology*, **29**, 529-535.
183. Sugino A., Peebles C. L., Kreuzer K. N., Cozzarelli N. R. (1977) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **74**, 4767-4771.
184. Higgins N. P., Peebles C. L., Sugino A., Cozzarelli N. R. (1978) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **75**, 1773-1777.
185. Mizuuchi K., O'Dea M. H., Gellert M. (1978) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **75**, 5960-5963.
186. Liu L. F., Wang J. C. (1978) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **75**, 2098-2102.
187. Itah T., Tomizawa J. I. (1977) *Nature*, **270**, 78-79.
188. Puga A., Tessman I. (1973) *J. Mol. Biol.*, **75**, 99-108.
189. Shuman H., Schwartz M. (1975) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **64**, 204-209.
190. Falco S. C., Zivin R., Rothman-Denes L. B. (1978) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **75**, 3220-3224.
191. Smith C. L., Kubo M., Imamoto F. (1978) *Nature*, **275**, 420-423.
192. Cozzarelli N. R. (1977) *Ann. Rev. Biochem.*, **46**, 641-668.
193. Mizuuchi K., Gellert M., Nash H. A. (1978) *J. Mol. Biol.*, **121**, 375-392.
194. Ishihara H. (1960) *J. Biochemistry*, **47**, 196-201.
195. Akashi S., Ishihara H. (1961) *J. Biochemistry*, **49**, 481-489.

196. Goto H. (1964) *J. Biochemistry*, **56**, 328-334.
197. Goto H. (1964) *J. Biochemistry*, **56**, 533-544.
198. Akashi S., Murachi T., Ishihara H., Goto H. (1965) *J. Biochemistry*, **58**, 162-167.
199. Прокофьев М. А., Антонович Е. Г., Богданов А. А. (1960) *Биохимия*, **25**, 931-936.
200. Богданов А. А., Прокофьев М. А., Антонович Е. Г., Терганова Г. В., Аписимова В. М. (1962) *Биохимия*, **27**, 266-272.
201. Богданов А. А., Антонович Е. Г., Терганова Г. В., Прокофьев М. А. (1962) *Биохимия*, **27**, 442-447.
202. Богданов А. А., Антонович Е. Г., Терганова Г. В., Прокофьев М. А. (1963) *Докл. АН СССР*, **150**, 1373-1374.
203. Терганова Г. В., Антонович Е. Г., Богданов А. А., Прокофьев М. А. (1965) *Докл. АН СССР*, **162**, 1191-1193.
204. Терганова Г. В., Бирюкова Н. В., Куллыев П., Богданов А. А., Прокофьев М. А. (1969) *Докл. АН СССР, Биология*, **188**, 474-476.
205. Богданов А. А. (1963) *Успехи совр. биологии*, **55**, 321-338.
206. Богданов А. А. (1973) *Докт. дис. «РНК-белковые взаимодействия в рибосомах»*, МГУ.
207. Lee Y. F., Nomoto A., Wimmer E. (1976) in: *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology* (Davidson J. N., Cohn W. E., eds), v. 19, pp. 89-96, Acad. Press, N. Y. - San Francisco - London.
208. Lee Y. F., Nomoto A., Detjen B. M., Wimmer E. (1977) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **74**, 59-63.
209. Nomoto A., Detjen B. M., Pozzatti R., Wimmer E. (1977) *Nature*, **268**, 208-213.
210. Flanagan J. B., Pettersson R. F., Ambros V., Hewlett M. J., Baltimore D. (1977) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **74**, 961-965.
211. Ambros V., Baltimore D. (1978) *J. Biol. Chem.*, **253**, 5263-5267.
212. Rothberg P. G., Harris T. J. R., Nomoto A., Wimmer E. (1978) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **75**, 4868-4872.
213. Sangar D. V., Rowlands D. J., Harris T. J. R., Brown F. (1977) *Nature*, **268**, 648-650.
214. Hruby D. E., Roberts W. K. (1978) *J. Virology*, **25**, 413-415.
215. Golini F., Nomoto A., Wimmer E. (1978) *Virology*, **89**, 112-118.
216. Дрыгина Ю. Ф., Вартапетян А. Б., Чумаков К. М. (1979) *Молекулярн. биология*, **13**, 777-787.
217. Daubert S. D., Bruening G., Najarian R. C. (1978) *Eur. J. Biochem.*, **92**, 45-51.
218. Stanley J., Rottier P., Davies J. W., Zabel P., Van Kammen A. (1978) *Nucl. Acids Res.*, **5**, 4505-4522.
219. Black D. N., Burroughs J. N., Harris T. J. R., Brown F. (1978) *Nature*, **274**, 614-615.
220. Mayo M. A., Bazker H., Harrison B. D. (1979) *J. Gen. Virology*, **43**, 735-740.
221. Nomoto A., Lee Y. F., Wimmer E. (1976) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **73**, 375-380.
222. Nomoto A., Kitamura N., Golini F., Wimmer E. (1977) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **74**, 5345-5349.
223. Pettersson R. F., Ambros V., Baltimore D. (1978) *J. Virology*, **27**, 357-365.
224. Pettersson R. F., Flanagan J. B., Rose J. K., Baltimore D. (1977) *Nature*, **268**, 270-272.
225. Ambros V., Pettersson R. F., Baltimore D. (1978) *Cell*, **15**, 1439-1446.

Поступила в редакцию
23.VIII.1978

После доработки
19.XII.1979

COVALENT COMPLEXES OF NUCLEOTIDES AND NUCLEIC ACIDS WITH PROTEINS: OCCURRENCE, STRUCTURE, FUNCTIONS

JUODKA B. A.

*Department of Biochemistry and Biophysics, Vilnius State
University, Vilnius*

The review covers the occurrence, structure and functions of covalent complexes formed by nucleotides or nucleic acids with proteins. The nucleotide-protein complexes are discussed which arise upon the action of DNA- and RNA ligases, glutamyl synthetase, aspartate kinase, galactose-1-phosphate-uridylyltransferase, a number of phosphodiesterases and RNA polymerase. DNA-protein complexes are subdivided into two groups: complexes which exist constantly in cells (in adenoviruses, bacteriophages $\phi 29$, $\phi 15$, M2, GA-1, Ehrlich ascites tumour cells, *E. coli* bacteria), and those forming during the action of relaxation enzymes on DNA. A separate chapter is devoted to RNA-protein complexes. The role of model compounds in elucidating the nature of chemical linkage between nucleotide or nucleic acid and the protein is discussed.