



УДК 547.963.32/547.466.3.07

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОКСИМЕТИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ
β-АЛАНИНА С НУКЛЕОТИДАМИ

Шепелев В. А., Косаганов Ю. П., Лазуркин Ю. С.

Институт молекулярной генетики Академии наук СССР, Москва

Спектрофотометрически изучено равновесие и кинетика реакций оксиметильных производных β-аланина с dCMP, dGMP, dAMP и m¹G в широком диапазоне pH. Более подробное исследование проведено при pH 5,4–5,6 и 40° С. Показано, что равновесные спектральные эффекты и кинетические константы dCMP, dAMP, m¹G в реакции с оксиметильными производными β-аланина существенно уменьшаются при увеличении pH выше 7, в то время как спектральный эффект и кинетические константы в случае dGMP увеличиваются. Обсуждается механизм реакции и определены равновесные и кинетические константы.

Продукты реакции формальдегида с β-аланином (предположительно оксиметильные производные β-аланина [4]) взаимодействуют со свободными основаниями ДНК [2] и вследствие этого расплетают ДНК [3]. Моноксиметильные производные β-аланина могут применяться для изучения локальных нарушений двойной спирали как свободной ДНК, так и ДНК, находящейся в комплексе с белками [4]. В связи с этим представлялось интересным продолжить изучение кинетики и равновесия реакции взаимодействия оксиметильных производных β-аланина с азотистыми основаниями ДНК. Такое исследование проведено в работе Хулордавы и соавт. [5] при pH 7. В данной работе более детально изучено равновесие и кинетика взаимодействия в трехкомпонентной смеси формальдегид — β-аланин — основания ДНК в широком интервале pH, в том числе при pH 5,5–5,6 и температуре 40° С — в условиях, наиболее близких к условиям кинетических опытов [3, 4]. При этих значениях pH также определена константа равновесия реакции β-аланина с формальдегидом, так как ее значение не было известно с достаточной точностью. Полученные результаты могут быть полезны для полуколичественного описания кинетики расплетания ДНК моноксиметильными производными β-аланина.

Исследование взаимодействия оксиметильных производных с нуклеотидами представляет также интерес в свете интенсивно обсуждающегося вопроса о том, что многочисленные проявления альдегидами физиологических свойств связаны с образованием карбиноламинов R—NR'—CHR''—OH, простейшим представителем которых являются изучаемые оксиметильные производные [6–8].

Определение равновесных и кинетических констант взаимодействия оксиметильных производных β-аланина с dUMP проводилось на основе спектральных изменений нуклеотидов в ходе реакции. При pH 5,5 эти изменения качественно такие же, как и при pH 7 [5, 9], и характеризуются сдвигом максимума поглощения в длинноволновую область спектра с наличием изобестической точки. В случае dAMP изобестическая точка довольно сильно размыта. Исследование кинетики взаимодействия dAMP с оксиметильными производными β-аланина указывает на образование с различной скоростью нескольких продуктов реакции. Это потребовало более сложной обработки кинетических кривых реакций.

Наибольшие спектральные изменения при низких значениях pH наблюдались для dGMP и dCMP. Реакция m¹G с оксиметильными производными β-аланина приводит к незначительным спектральным изменениям.

Спектральные изменения реакционных смесей имеют различную pH-зависимость. При переходе от слабощелочных значений к pH 6,5–6 эти из-

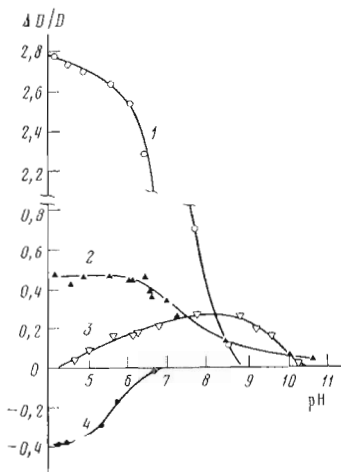


Рис. 1

Рис. 1. Зависимость от рН равновесного относительного спектрального эффекта $(D_{\infty} - D_0)/D_0$ реакции dNMP с оксиметильными производными β-аланина, β_0 1 M: 1 — dCMP, φ_0 0,1 M, λ 290 нм; 2 — dAMP, φ_0 0,1 M, λ 272 нм; 3 — dCMP, φ_0 0,01 M, λ 290 нм; 4 — m¹G, φ_0 0,2 M, λ 290 нм

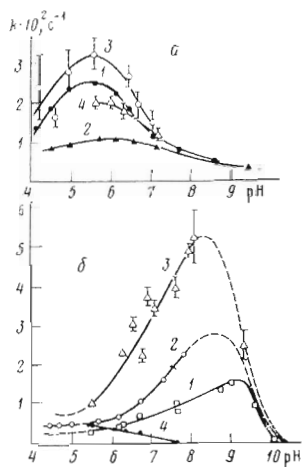
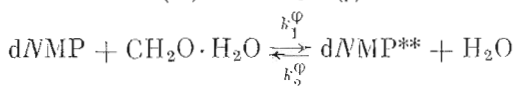
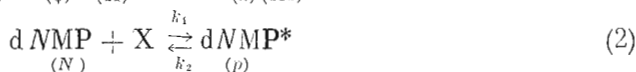
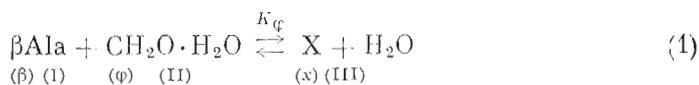


Рис. 2

Рис. 2. Зависимость константы скорости реакции псевдопервого порядка от рН при β_0 1 M: а — для dCMP при φ_0 0,1 M (1), 0,02 M (2); для dAMP при φ_0 0,1 M (3), 0,06 M (4); б — для dGMP при φ_0 0,01 M (1), 0,02 M (2), 0,04 M (3); для m¹G при φ_0 0,2 M (4)

менения возрастают для dCMP, dAMP и m¹G и уменьшаются для dGMP (рис. 1).

Для описания взаимодействия dNMP с монооксиметильными производными β-аланина была предложена [5] кинетическая схема (1), (2)



где X — монооксиметильное производное β-аланина, dNMP* — продукт реакции, dNMP** — оксиметилированный dNMP (под символами соединений в скобках приведены обозначения их концентраций).

Поскольку мы не учитываем здесь других продуктов реакции β-аланина с формальдегидом, константа $K_{\text{ф}}$ является эффективной. Из дальнейшего будет видно, что соотношение констант $k_1, k_2, k_1^{\phi}, k_2^{\phi}$ таково, что последним каналом можно пренебречь. Однако не все экспериментальные данные описываются этой кинетической схемой, которая тем не менее предпочтительна для многих случаев в силу своей простоты.

Кинетика достижения равновесия реакций в смеси dNMP — β-аланин — формальдегид исследовалась большей частью в максимуме разностных спектров. Реакция взаимодействия dCMP, dGMP и m¹G с монооксиметильными производными β-аланина в условиях $N_0 \ll \varphi_0 \ll \beta_0$ в широком интервале значений рН является реакцией псевдопервого порядка и описывается линейной зависимостью

$$\ln \frac{D_{\infty} - D_0}{D_{\infty} - D_t} = kt, \quad (3)$$

где t — время, отсчитываемое от произвольного момента после начала реакции; D_0, D_t, D_{∞} — оптическое поглощение в момент времени $t=0, t$ и $t=\infty$ соответственно; k — константа скорости реакции псевдопервого порядка.

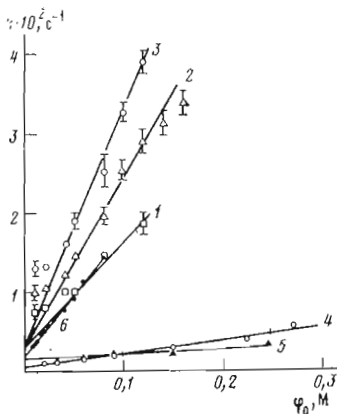


Рис. 3

Рис. 3. Зависимость константы скорости реакции псевдопервого порядка от φ_0 при pH 5,5: 1 — dCMP, β_0 0,5 М; 2 — dCMP, β_0 1 М; 3 — dCMP, β_0 2 М (сплошными линиями нанесена расчетная зависимость k для значений k_1 0,52 М⁻¹с⁻¹, k_2 3,3·10⁻³ с⁻¹, K_F 0,69 М⁻¹); 4 — m¹G, β_0 1 М; 5 — m¹G, β_0 1 М (pH 6,8); 6 — dGMP, β_0 1 М (прямые линии проведены на основании метода наименьших квадратов)

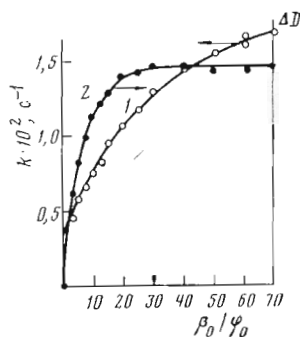


Рис. 4

Рис. 4. Зависимость константы скорости реакции псевдопервого порядка (1) и равновесного спектрального эффекта реакции $\Delta D = D_\infty - D_0$ (произвольные единицы) (2) для dCMP от β_0/φ_0 при постоянном φ_0 0,04 М. Сплошными линиями нанесена расчетная зависимость для значений k_1 0,52 М⁻¹с⁻¹, k_2 3,3·10⁻³ с⁻¹, K_F 0,69 М⁻¹

Исследование кинетики реакции dAMP с оксиметильными производными β -аланина показало, что кроме быстрой стадии, идущей со скоростью, сопоставимой со скоростью реакции для dCMP, наблюдается также медленная стадия. Медленная стадия связана, как уже указывалось, с образованием побочного продукта и представляет собой, по-видимому, расщепление N-гликозидной связи [10]. Такое поведение dAMP потребовало привлечения дополнительных предположений и более сложной обработки кинетических кривых.

Обработка кинетических кривых в случае dAMP проводилась в предположении, что быстрая стадия обусловлена реакцией, аналогичной случаю с dCMP.

Медленная стадия реакции описывается экспоненциальной или, в ограниченном диапазоне времен, линейной зависимостью.

Если первая стадия (2) является быстрой по сравнению с последующими, то, как легко видеть, в этом случае показатель «быстрой» экспоненты близок к величине $-k_1x - k_2$. Этот параметр для dAMP определялся разложением кинетической кривой на сумму двух экспонент или сумму экспоненты и линейной части. Естественно, что точность определения данного параметра довольно низкая. Значения констант скорости реакции псевдопервого порядка не зависят от длины волны, при которой наблюдается реакция. Исследования показали, что константы скорости реакции псевдопервого порядка для dCMP, dGMP и m¹G зависят от pH (рис. 2).

Константа скорости реакции псевдопервого порядка k для dCMP не зависит от ионной силы вплоть до 1 М NaCl. Константа k для dGMP слабо зависит от ионной силы при использованных в данной работе концентрациях ионов.

Следует отметить, что за время наших опытов концентрация оксиметильных производных β -аланина меняется настолько мало, что в пределах точности экспериментов это не влияет на константу скорости реакции псевдопервого порядка.

Проведенное нами исследование реакции β -аланина с формальдегидом с помощью техники остановленной струи свидетельствует, что реакция достигает квазиравновесия за несколько секунд. Обратимость реакции

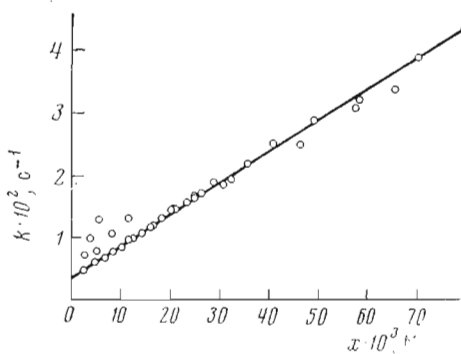


Рис. 5

Рис. 5. Зависимость константы скорости реакции псевдопервого порядка k для dCMP от концентрации оксиметильных производных β -аланина (x), pH 5,5

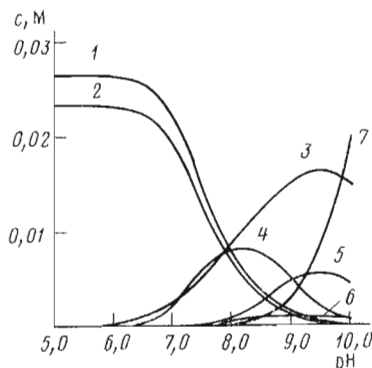


Рис. 6

Рис. 6. Зависимость от pH концентраций компонентов равновесной смеси β -аланина и формальдегида. Для расчета равновесного состава реакционной смеси выбраны следующие значения констант: $[V]/[IV][II] 200$, $[VI]/[IV][II]^2 800$, $[Va]/[IVa][II] 0,9$, $[VIa]/[IVa][II]^2 0$, $[VIII]/([IV][II])^3 10^{-10}$, $[VII]/[IV][V] 4$, $pK_{VIIa} 8,5$, $pK_{VIIIa} 9$, $\beta_0 1 \text{ M}$, $\varphi_0 0,05 \text{ M}$. 1 - (II); 2 - (Va), 3 - (V), 4 - (VIIIa), 5 - (VIII), 6 - (VIIa), 7 - (VII). Обозначения см. схему (5) и пояснения к ней

dNMP с оксиметильными производными β -аланина была показана ранее [5].

Зависимость константы скорости реакции псевдопервого порядка от начальных концентраций β -аланина (β_0) и формальдегида (φ_0) с учетом константы равновесия K_φ образования оксиметильных производных, согласно [5], имеет вид

$$k = k_1 x + k_2 = k_1 \frac{K_\varphi \beta_0}{1 + K_\varphi \beta_0} \varphi_0 + k_2. \quad (4)$$

Константа скорости реакции псевдопервого порядка k линейно зависит от φ_0 при постоянном β_0 в соответствии с формулой (4) (рис. 3). Зависимость k от β_0 при постоянном значении φ_0 представлена на рис. 4. В соответствии с выражением (4) эта зависимость нелинейна и позволяет только приблизительно оценить значение k_2 . При pH 5,5 константы k_1 , k_2 , k_φ были определены двумя способами: 1) с помощью формулы (4) (соответственно рис. 4); 2) методом, предложенным ранее (см. [5], приложение 1), который, по существу, использует как кинетические данные, так и величины равновесного спектрального эффекта ($D_\infty - D_0$). Значение K_φ оказалось равным $0,69 \pm 0,05 \text{ M}^{-1}$, что близко к значению, определенному кинетическим способом; определение K_φ только по величине спектрального эффекта (спектрофотометрическим титрованием) в независимых опытах дало менее точные, но близкие по величине K_φ и $K = k_1/k_2$.

Определенная таким образом величина K_φ была использована для вычисления концентрации монооксиметильного производного x . Используя полученные значения x , построили зависимость k от x (рис. 5), которая должна быть линейной в соответствии с уравнением (4). Из этой зависимости получены значения констант для dCMP (см. таблицу). На рис. 3 приведены прямые для трех значений β_0 в соответствии с формулой (4). Экспериментальные точки удовлетворительно ложатся на проведенные прямые. Это говорит о том, что формула (4) при данных значениях k_1 , k_2 и K_φ удовлетворительно описывает исследуемую систему в диапазоне концентраций формальдегида от 0,03 до 0,15 M и β -аланина от 0,5 до 2 M. В области малых значений φ_0 имеется систематическое отклонение от линейности.

Аналогично получены значения констант для dAMP (см. таблицу).

В работе [5] нелинейная зависимость константы скорости реакции псевдопервого порядка от концентрации оксиметильных производных β -

Значения констант равновесия K и скоростей прямой и обратной реакций монооксиметильных производных β -аланина с аминогруппами dNMP, а также значения констант равновесия и скоростей реакций формальдегида с dNMP [25], T 40° C

dNMP	Реагент	pH	$k_1, M^{-1} c^{-1}$	k_2, c^{-1}	K, M^{-1}
dCMP	CH ₂ O <i>x</i>	5-7	0,55·10 ⁻²	0,77·10 ⁻²	7,1
		5,5	0,52±0,11	(3,3±0,7)·10 ⁻³	160±40
		6,95 [5]	0,5	2,5·10 ⁻³	200
dAMP	CH ₂ O <i>x</i>	5-7	0,73·10 ⁻³	0,085·10 ⁻³	8,6
		5,5	0,27±0,12	(1,5±0,4)·10 ⁻²	20±8
		6,95 [5]	0,4	1,6·10 ⁻³	250
dGMP	CH ₂ O <i>x</i>	5-7	1,2·10 ⁻³	0,9·10 ^{-3*}	5,7±0,5 *
		5,5	0,4±0,02	(1,7±0,5)·10 ⁻³	225±70
		6,95 [5]	0,9	2·10 ⁻³	460
m ¹ G	CH ₂ O <i>x</i>	6,95	—	—	4,4±0,3 **
		5,5	(5±1,5)·10 ⁻²	(0,5±0,1)·10 ⁻³	100±25
		6,8	(1,45±0,45)·10 ⁻²	(1,3±0,25)·10 ⁻³	12

* При 25° C. ** При 23° C.

аланина при pH 6,95 в случае dGMP была объяснена на основе модели, в которой предполагалось, что быстрое взаимодействие оксиметильных производных β -аланина с иминогруппой N1 гуанина приводит к настолько сильным помехам (возможно, просто стерическим), что дальнейшее их взаимодействие с рядом расположенной аминогруппой становится невозможным.

Введение небольшого заместителя — метильной группы CH₃ — в положении N1 гуанозина приводит к тому, что зависимость константы скорости реакции псевдопервого порядка от ϕ_0 при постоянной концентрации β -аланина становится линейной как при pH 6,8, так и при pH 5,5 (рис. 3). (Константа скорости реакции не зависит от длины волны наблюдения, как это было проверено специальными опытами.) По данным рис. 3 с помощью выражения (4) были вычислены равновесные и кинетические константы реакции аминогруппы m¹G (см. таблицу). Значения констант равновесия реакции образования оксиметильных производных β -аланина были выбраны при расчете равными K_p 1,07 M⁻¹ [5] (pH 6,8), 0,69 M⁻¹ (pH 5,5).

Таким образом, введение метильной группы в N1-положение гуанозина вызывает значительное уменьшение константы скорости прямой реакции при pH 7,0.

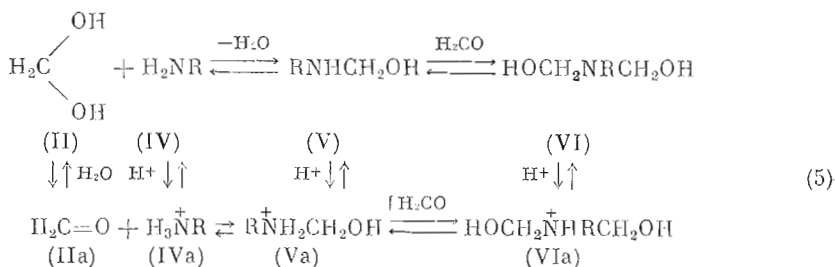
Изучение взаимодействия dGMP с оксиметильными производными β -аланина при pH 5,5 также показало линейную зависимость константы скорости реакции псевдопервого порядка от концентрации формальдегида (рис. 3, таблица).

Линейный характер зависимости константы скорости реакции псевдопервого порядка от концентрации монооксиметильных производных β -аланина для dGMP (см. рис. 3) указывает на то, что при pH 5,5 имеется только один продукт реакции.

Полученные результаты свидетельствуют в пользу модели, обсуждавшейся в работе [5], для взаимодействия dGMP с оксиметильными производными β -аланина (см. ниже).

Исследование взаимодействия оксиметильных производных β -аланина с основаниями ДНК в отличие от формальдегида представляет значительные трудности, обусловленные в первую очередь тем, что этот агент является лабильным (это необходимо учитывать, ср. [11]) продуктом взаимодействия β -аминогруппы аминокислоты с формальдегидом. Кроме того, обычно в реакционной смеси, содержащей формальдегид и первичный амин, образуются оксиметильные производные как в нейтральной (V), так и в протонированной форме (Va) и ряд других продуктов [1, 6, 12-18].

Основные реакции в смеси формальдегида и первичного амина описываются схемой равновесий [14—23]:



Образование монооксиметильных производных относительно быстрый процесс, характерные времена которого составляют секунды [23]. Кроме того, могут образовываться продукты дегидратации оксиметильных производных — основания Шиффа $\text{RNH}=\overset{\text{H}^+}{\text{C}}\text{H}_2 \rightleftharpoons \text{RNH}_2=\overset{+}{\text{C}}\text{H}_2$, а также димеры (VII), циклические тримеры (VIII), их протонированные формы (VIIa, VIIIa) и другие соединения [6, 14, 17]. Образование этих продуктов является медленным процессом.

Известно, что константа равновесия K_p реакции взаимодействия формальдегида с протонированной по аминогруппе формой аминокислот и других первичных аминов на 2—3 порядка ниже, чем с непротонированной формой [17]. Используя этот факт, а также данные работ [1, 22], в которых была определена константа равновесия реакции взаимодействия формальдегида с β -аланином в непротонированной форме, мы провели оценку значений констант равновесия реакции взаимодействия формальдегида с протонированной формой β -аланина. Согласно литературным данным и корреляционным зависимостям [6, 17, 20, 23], значение K_p лежит в пределах 0,6—1,04 M^{-1} (при 20—25° C), что хорошо согласуется с определенной нами величиной 0,69 M^{-1} (при pH 5,5 и 40° C), когда основным продуктом реакции с формальдегидом является заряженное оксиметильное производное (Va).

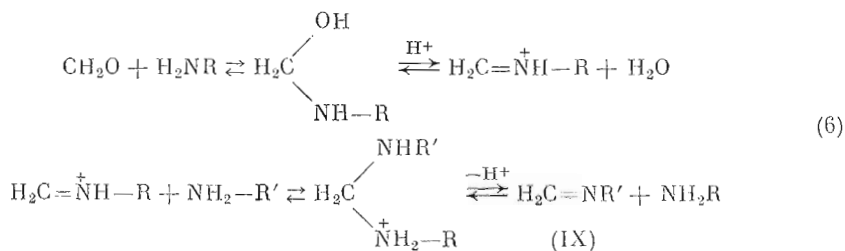
Исходя из корреляционных уравнений для констант равновесия реакций в смеси аминокислоты и формальдегида [6], можно оценить эти константы и рассчитать равновесный состав реакционной смеси. Проведенный нами расчет для β -аланина (рис. 6) показал, что при pH ≤ 7 основным продуктом реакции является протонированное монооксиметильное производное, а продукты иного строения составляют малую долю ($\approx 10\%$) от концентрации формальдегида. Уменьшение концентрации заряженного оксиметильного производного при повышении pH — главный фактор, обуславливающий падение относительного спектрального эффекта реакции dAMP, dCMP, m'G с оксиметильными производными β -аланина при увеличении pH.

Изменения спектров, наблюдаемые в смеси нуклеотидов с β -аланином и формальдегидом, нельзя объяснить наличием в смеси свободного формальдегида, так как константы равновесия реакции азотистых оснований с оксиметильными производными не менее чем на порядок превышают соответствующие константы взаимодействия оснований с формальдегидом (см. таблицу) и соответствующие удельные спектральные изменения малы [25].

Можно было бы предположить, что наблюдаемое ускорение реакции нуклеотидов с формальдегидом в присутствии β -аланина (и других аминов) обусловлено общим кислотно-основным катализом амином. Однако в этом случае константа скорости реакции псевдопервого порядка дается выражением, отличающимся от выражения (4) данной работы тем, что в k_1 и k_2 должны входить члены, пропорциональные β_0 [19], и x заменено на ϕ . Наблюдаемые зависимости k от β_0 (рис. 4) указывают на то, что закономерность, характерная для кислотно-основного катализа, отсутствует, и этим типом катализа, если он и имеет место, можно пренебречь.

(В нашей работе общим кислотно-основным катализом буфером, т. е. фосфатами и какодилатом, можно пренебречь.)

Другое предположение может быть связано с нуклеофильным катализом. Реакции, происходящие при этом виде катализа, описываются схемой



Здесь $\text{H}_2\text{N}-\text{R}$ — сильный нуклеофил (в данном случае β -аланин), $\text{NH}_2-\text{R}'$ — азотистое основание.

Поскольку на опыте наблюдается (рис. 4) увеличение степени превращения нуклеотида при увеличении концентрации β -аланина, то последней стадии, представленной на схеме (6), не происходит, так как увеличение концентрации β -аланина приводит к уменьшению концентрации свободного формальдегида и, таким образом, к уменьшению концентрации продукта типа (IX). Таким образом, ускорение реакции dUMP с формальдегидом в присутствии β -аланина объясняется не нуклеофильным катализом, а образованием нового продукта реакции.

Уменьшение константы скорости прямой реакции (как это видно по уменьшению k) с увеличением pH среды (рис. 2) можно объяснить тем, что реакция взаимодействия оксиметильных производных β -аланина с азотистыми основаниями происходит через Шиффово основание в протонированной форме, как показано для ряда химических систем [20], поскольку концентрация катионного основания Шиффа $\text{RN}^+\text{H}=\text{CH}_2$ меняется одновременно с концентрацией протонированного оксиметильного производного (Va). Уменьшение величины k при повышении pH среды может быть связано с протонированием азотистого основания или карбоксильной группы аминокислоты.

В работе [5] было показано, что при pH 6,95 dGMP ведет себя в реакции с оксиметильными производными β -аланина более сложным образом, чем dCMP или dAMP. Для исследования этого вопроса изучалось взаимодействие $m^1\text{G}$ с оксиметильными производными β -аланина. Оказалось, что спектральные эффекты и константы скорости взаимодействия $m^1\text{G}$ с оксиметильными производными β -аланина существенно уменьшаются по сравнению с dGMP (см. рис. 1 и таблицу), в то время как константа равновесия уменьшилась несущественно. Единственной причиной этого следует считать замену водорода в N1-положении гуанозина на метильную группу. Следовательно, можно сделать вывод, что гуанин, прореагировав по иминогруппе (N1-положение), практически не взаимодействует по аминогруппе, как и предполагалось [5].

В нашем исследовании реакции dGMP с оксиметильными производными β -аланина при pH 5,5 обнаружено, что константа скорости реакции псевдопервого порядка линейно зависит от концентрации оксиметильных производных (см. рис. 3). Следовательно, при этих значениях pH нет никакого указания на реакцию с иминогруппой гуанозина. Нам также не удалось обнаружить реакцию dTMP с оксиметильными производными β -аланина при нейтральных pH.

Экспериментальная часть

В работе использовались дезоксирибонуклеозид-5'-монофосфаты (dUMP; Reanal, Венгрия; Boehringer, ФРГ) и N1-метилгуанозин ($m^1\text{G}$; Sigma, США). Чистота препаратов была проверена методом тонкослойной хроматографии в ИБХ АН СССР.

В работе использовался коммерческий формальдегид, очищенный от полимеров охлаждением с последующим фильтрованием и перекристаллизованный β-аланином (Reanal, Венгрия). Концентрация формальдегида определялась сульфитным методом [12].

Оксиметильные производные получались смешением растворов формальдегида и β-аланина.

Исследование реакции dUMP с оксиметильными производными β-аланина при pH 5,2–6,5 в 0,1 М какодильном буфере, при pH 6,3–7,8 в 0,1 М фосфатном буфере, при pH 7,8–10 в 0,1 М боратном буфере, за исключением m¹G, для которого концентрация буфера была выбрана равной 0,2 М, так как в последнем случае из-за малых спектральных эффектов реакции необходимо было использовать более высокую концентрацию оксиметильных производных, что потребовало в свою очередь увеличения емкости буфера для поддержания постоянного pH.

Кинетический опыт проводили согласно [5]. При исследовании влияния pH на кинетику взаимодействия dUMP с оксиметильными производными β-аланина исходные реагенты до смешения титровались NaOH и HCl. pH исследуемого раствора измеряли после завершения кинетического опыта непосредственно в исследуемом образце с точностью ±0,1. Кинетику реакций прослеживали по их спектральному эффекту на определенной длине волны и регистрировали на самопишущем спектрофотометре «Perkin-Elmer 402» (Англия). Спектры регистрировали на том же приборе, в ряде случаев — на самопишущем спектрофотометре «Cary 219» (США).

Мы выражаем глубокую благодарность М. Д. Франк-Каменецкому, А. В. Лукашину, А. В. Вологодскому за многочисленные полезные обсуждения.

ЛИТЕРАТУРА

1. French D., Edsall T. Adv. Protein Chem., 1945, v. 2, p. 227–335.
2. Siomin Yu. A., Simonov V. V., Poverenny A. M. Biochim. et biophys. acta, 1973, v. 331, № 1, p. 27–32.
3. Хулордава К. Г., Косаганов Ю. Н., Зарудная М. И., Лазуркин Ю. С., Семин Ю. А., Поверенный А. М. Молекулярн. биология, 1977, т. 11, № 4, с. 826–832.
4. Kosaganov Yu. N., Zarudnaya M. I., Khulordava K. G., Lazurkin Yu. S. Materials of FEBS symposium on DNA «DNA recombination, interactions and repair». Pergamon Press, 1980, v. 63, p. 261–271.
5. Хулордава К. Г., Косаганов Ю. Н., Лазуркин Ю. С. Молекулярн. биология, 1978, т. 12, № 6, с. 1390–1407.
6. Feraud P. F., Le Henaff Ph. Bull. Soc. chim. France, 1968, № 5, p. 1968–1978.
7. Schauenstein E., Esterbauer K., Zollner H. In: Aldehydes in biological systems. Their natural occurrence and biological activities. London: Pion, 1978.
8. Auerbach C., Moutschen-Dahmen M., Moutschen J. Mutat. Res., 1977, v. 39, № 3–4, p. 317–361.
9. Семин Ю. А., Коломыйцева Е. Н., Поверенный А. М. Молекулярн. биология, 1974, т. 8, № 2, с. 276–285.
10. Семин Ю. А., Коломыйцева Е. Н., Поверенный А. М. Биоорганич. химия, 1975, т. 1, № 3, с. 317–327.
11. Коломыйцева Е. Н., Семин Ю. А., Поверенный А. М. Молекулярн. биология, 1978, т. 12, № 6, с. 1231–1238.
12. Уокер Дж. Ф. В кн.: Формальдегид. М.: Госхимиздат, 1957, с. 423.
13. Le Henaff Ph. Bull. Soc. chim. France, 1965, № 11, p. 3113–3130.
14. Турьян Я. П. Успехи химии, 1977, т. 46, № 10, с. 1757–1786.
15. Kitamoto Y., Maeda H. J. Biochem., 1980, v. 87, № 5, p. 1519–1530.
16. Турьян Я. П. В кн.: Химические реакции в полярографии. М.: Химия, 1980.
17. Kallen R. G., Jencks W. P. J. Biol. Chem., 1966, v. 241, № 24, p. 5864–5878.
18. Kallen R. G., Viale R. O., Smith L. K. J. Amer. Chem. Soc., 1972, v. 94, № 2, p. 576–582.
19. Kallen R. G. J. Amer. Chem. Soc., 1971, v. 93, № 23, p. 6227–6235.
20. Дженкс В. П. Катализ в химии и энзимологии. М.: Мир, 1972.
21. Leuy M. J. Biol. Chem., 1935, v. 109, № 1, p. 365–381.
22. Турьян Я. П., Жангалай Б. П. Кинетика и катализ, 1962, т. 3, № 3, с. 325–331.
23. Турьян Я. П. Ж. общ. химии, 1975, т. 45, № 9, с. 2107–2108.
24. Kallen R. G. J. Amer. Chem. Soc., 1974, v. 93, № 23, p. 6236–6248.
25. McGhee J. D., von Hippel P. H. Biochemistry, 1975, v. 14, № 6, p. 1281–1296.
26. Abrams W. R., Kallen R. G. J. Amer. Chem. Soc., 1976, v. 98, № 24, p. 7777–7789.
27. Jencks W. P. Progr. Phys. Org. Chem., 1964, v. 2, p. 63–128.

Поступила в редакцию
24.XI.1981

INTERACTION OF β -ALANINE HYDROXYMETHYL DERIVATIVES WITH NUCLEOTIDES

SHEPELEV V. A., KOSAGANOV Yu. N., LAZURKIN Yu. S.

Institute of Molecular Genetics, Academy of Sciences of the USSR, Moscow

The equilibrium and kinetics of interaction of hydroxymethyl derivatives of β -alanine with dCMP, dGMP, dAMP, m¹G have been studied spectrophotometrically over a wide pH range, and in more detail at pH 5,4-5,6 and 40° C. It is shown that equilibrium spectral changes and kinetic constants for dCMP, dAMP, m¹G in the reaction with β -alanine hydroxymethyl derivatives decrease dramatically upon pH raise above 7, while those for dGMP significantly increase. The reaction mechanism is discussed and the equilibrium and kinetic constants are determined.