

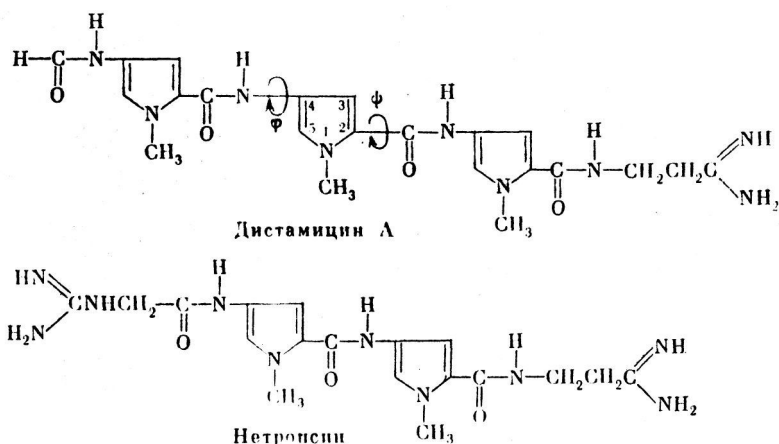
А. С. ЗАСЕДАТЕЛЕВ, А. Л. ЖУЗЕ, К. ЦИММЕР,  
С. Л. ГРОХОВСКИЙ, В. Г. ТУМАНЯН, Г. В. ГУРСКИЙ,  
Б. П. ГОТТИХ\*

**СТЕРЕОХИМИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ МОЛЕКУЛЯРНОГО МЕХАНИЗМА  
«УЗНАВАНИЯ» АТ-ПАР ПРИ СВЯЗЫВАНИИ С ДНК  
АНТИБИОТИКОВ ДИСТАМИЦИНА А И НЕТРОПСИНА**

(Представлено академиком В. А. Энгельгардтом 22 VII 1976)

Одной из основных задач в изучении молекулярных механизмов регуляции генной активности является выяснение стереохимических основ узнавания определенных последовательностей нуклеотидов в двойной спирали нуклеиновых кислот (<sup>1</sup>). Такое узнавание выражается преимущественно адсорбцией молекул белка на тех участках полинуклеотида, которые содержат последовательность оснований, комплементарную к последовательности АТ- и GC-специфичных реакционных центров на поверхности молекулы белка. Простейшими модельными аналогами регуляторных белков могут служить различные низкомолекулярные вещества, способные узнавать лишь одно определенное основание или короткую последовательность оснований в ДНК. Наиболее известными из таких веществ являются антибиотик актиномицин (АМ), требующий для своего связывания 2-аминогруппу гуанина, выходящую в узкую бороздку ДНК (2), а также олигопептидные антибиотики дистамицин А (ДМ) и нетропсин (НТ), требующие наличия АТ-пар для своего связывания (обзор литературы см. в (<sup>3</sup>)).

Химическая структура дистамицина А и нетропсина:



Показаны нумерация атомов и конформационные углы  $\phi$  и  $\psi$ . Конформационные углы  $\phi$  и  $\psi$  равны нулю для цис-конформаций (для  $\phi=0$  связь С — N есть цис по отношению к связи С4 — С5; для  $\psi=0$  связь С — N есть цис по отношению к связи С2 — С3). Конформационные углы положитель-

ны, если дальняя связь вращается по часовой стрелке относительно ближней связи.

Для выяснения стереохимических особенностей, обеспечивающих селективное узнавание низкомолекулярными веществами GC- и AT-пар, в ряде работ изучалась структура комплексов AM, DM и NT с ДНК. Стереохимические модели комплексов с ДНК GC-специфичного антибиотика актиномицина D были подробно изложены в (<sup>4,5</sup>). В настоящей работе предлагается стереохимическая модель, описывающая общие свойства комплексов с ДНК AT-специфичных антибиотиков DM и NT.

При выяснении пространственной структуры комплексов низкомолекулярных веществ с ДНК первостепенную важность приобретают сведения о конформации участков ДНК, входящих в состав комплекса. В случае DM и NT задача отыскания структуры комплексов с ДНК существенно упрощается, так как двойная спираль ДНК в местах связывания молекул этих антибиотиков имеет В-подобную конформацию, что непосредственно вытекает из следующих экспериментальных данных: 1) DM и NT не раскручивают суперспиральную ДНК при связывании (<sup>6</sup>); 2) DM и NT не связываются с двойной спиралью РНК (<sup>7</sup>), существующей лишь в А-конформации; при связывании этих антибиотиков с ДНК в 80 % этаноле, стабилизирующем А-форму ДНК, наблюдается переход из А-конформации в В (<sup>8</sup>); 3) спектры кругового дихроизма (к.д.) комплексов NT с ДНК и синтетическими полидезоксирибонуклеотидами могут быть представлены в виде аддитивной суммы спектра связанной формы антибиотика и спектра нуклеиновой кислоты в отсутствие антибиотика (<sup>8</sup>).

Другим важным обстоятельством, облегчающим выяснение структуры комплекса, является вывод о том, что конформация связанной молекулы антибиотика в широких пределах не зависит от AT-состава ДНК, входящей в участок связывания. Это заключение находит свое подтверждение в том, что спектр к.д. связанных молекул NT не зависит, в первом приближении, от AT-состава полимера (<sup>8</sup>). Следовательно, стехиометрия комплекса может быть определена из экспериментов по связыванию DM или NT с гомополимером поли(dA) • поли(dT). Соответствующие измерения показали, что молекула каждого из этих антибиотиков занимает на ДНК пять пар оснований (8). Такая оценка хорошо коррелирует с ван-дер-Вальсовскими размерами молекул этих антибиотиков в полностью растянутом состоянии (20 А). Отсюда следует, что молекула антибиотика связывается в одной из спиральных бороздок ДНК и накрывает 5 пар оснований. Этот вывод подтверждается независимыми экспериментальными данными (<sup>9</sup>) о значительной некомпланарности дипольных моментов оптических переходов связанной молекулы DM и оснований ДНК.

Дальнейшее уточнение геометрии комплекса может быть осуществлено на основании следующих экспериментальных данных, свидетельствующих в пользу локализации связанных молекул DM и NT в узкой бороздке ДНК: 1) наличие остатков глюкозы в широкой бороздке ДНК фагов T<sub>2</sub> и T<sub>6</sub> не влияет на связывание NT (<sup>8</sup>); 2) связываясь с ДНК, антибиотики DM и NT экранируют от метилирования диметилсульфатом N3 атомы аденинов, выходящие в узкую бороздку, в то время как уровень метилирования N7-атомов гуанинов, выходящих в широкую бороздку ДНК, не изменяется (<sup>10</sup>); 3) антибиотики DM и NT связываются с поли (dA) • поли (dT), поли d(A—T) • поли d(A—T) и поли (dI) • поли (dC), но не образуют сильного типа комплекса с синтетическими ДНК, состоящими только из GC-пар оснований (<sup>11</sup>). Однако единственное различие между поли (dI) • поли (dC) и поли (dG) • поли (dC) состоит в отсутствии в положении 2 пуриновых колец поли (dI) • поли (dC) аминогрупп, выходящих в узкую бороздку. Следовательно, 2-аминогруппа гуанина либо создает стерические препятствия для образования специфических водородных связей между молекулой антибиотика и ДНК, либо изменяет химическую реактивность пуринового и пиримидинового циклов. (В двойной спирали ДНК 2-амино-

группа гуанина образует, как известно, водородную связь с карбонильной группой цитозина.)

Переходя к обсуждению факторов, определяющих АТ-специфичность связывания НТ и ДМ, отметим, что изотермы адсорбции НТ на природных и синтетических ДНК согласуются с моделью, в которой молекула антибиотика накрывает пять пар оснований в узкой бороздке ДНК и несет три реакционных центра, ответственных за избирательность связывания с АТ-

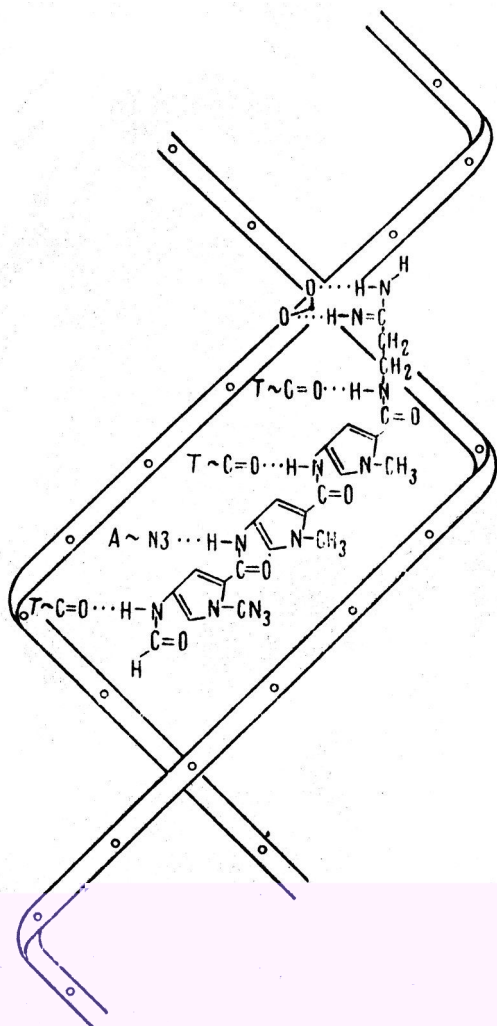


Рис. 1. Схематическое представление модели комплекса между дистамицином А и ДНК. Каждая лента представляет собой отдельную полинуклеотидную цепь. Последовательность ТАТТ в верхней полинуклеотидной цепи является связывающим местом для антибиотика. Водородные связи показаны пунктирными линиями

тически молекулярная модель для комплекса ДМ с АТ-богатыми участками ДНК. В соответствии с этой моделью молекула ДМ присоединяется к АТ-парам в узкой бороздке ДНК с помощью четырех водородных связей, образуемых между амидными группами антибиотика и кислородами О2 тимина и азотом N3 адепина. Замещение АТ-пары на GC-пару ослабляет взаимодействие между антибиотиком и ДНК. Структура комплекса допол-

парами ДНК<sup>(8)</sup>. Этими реакционными центрами, вероятно, являются амидные группы антибиотика, взаимодействующие с АТ-парами ДНК с помощью водородных связей. Указанием на наличие водородных связей между молекулами антибиотиков и ДНК является существенно неионный характер взаимодействия НТ и ДМ с ДНК<sup>(7,8)</sup>, а также дестабилизирующее действие агентов, рвущих водородные связи, на комплексы НТ — ДНК и ДМ — ДНК<sup>(3)</sup>. Сильным аргументом в пользу того, что НТ несет несколько АТ-специфичных реакционных центров, является тот факт, что имеется несколько типов сильных связывающих мест для НТ на природной ДНК, в то время как только один класс связывающих мест наблюдается для комплексов НТ с поли (dA) • поли (dT) и поли d(A—T) • поли d(A—T)<sup>(8)</sup>. Следовательно, микроскопическая константа связывания НТ или ДМ с некоторым участком природной ДНК зависит от числа АТ-пар в этом участке и от их последовательности.

Рассмотрение молекулярных моделей и конформационные расчеты показывают, что N-метилпирролкарбоксамидный остов молекулы антибиотика может образовывать спираль, изогеометричную спирали ДНК в В-форме, причем значения двугранных углов  $\phi$  и  $\psi$  (см. схему) для такой спиральной структуры составляют 140 и 60° соответственно. При этом амидные группы антибиотика могут быть соединены с АТ-парами при помощи водородных связей.

На рис. 1 представлена схематически молекулярная модель для комплекса ДМ с АТ-богатыми участками ДНК. В соответствии с этой моделью молекула ДМ присоединяется к АТ-парам в узкой бороздке ДНК с помощью четырех водородных связей, образуемых между амидными группами антибиотика и кислородами О2 тимина и азотом N3 адепина. Замещение АТ-пары на GC-пару ослабляет взаимодействие между антибиотиком и ДНК. Структура комплекса допол-

нительно стабилизируется двумя сильными водородными связями, соединяющими положительно заряженную пропаноамидиновую группу антибиотика и фосфатную группу ДНК.

ДМ взаимодействует с основаниями, находящимися в одной в той же полинуклеотидной цепи. Так как атомы O2 пиримидинов находятся в двойной спирали ДНК примерно на 0,5 Å дальше от оси спирали, чем атомы N3 пуринов, то представляется вероятным, что ДМ взаимодействует более сильно с гомополимером поли (dA)•поли (dT), чем с поли d(A—T)•поли d(A—T). Этот вывод был недавно подтвержден в экспериментах по связыванию НТ с двухспиральными олигонуклеотидами (<sup>12</sup>). Нельзя также не отметить, что внешнее расположение N—CH<sub>3</sub>-групп пиррольных колец по отношению к оси двойной спирали ДНК в комплексе удовлетворяет следующему экспериментальному факту, установленному ними: введение объемных заместителей в положении 1 пиррольных колец не оказывает существенного влияния на связывание ДМ.

Изложенная схема стероспецифичного связывания была распространена на описание специфичного взаимодействия регуляторных белков с ДНК (<sup>1,13,14</sup>).

Институт молекулярной биологии  
Академии наук СССР  
Москва

Поступило  
10 VII 1976

Институт микробиологии  
и экспериментальной терапии  
Академии наук ГДР  
Иена

#### ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Г. В. Гурский, В. Г. Туманян и др., Молек. биол., т. 9, 635 (1975). <sup>2</sup> A. Cerami, E. Reich et al, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., v. 57, 1036 (1967). <sup>3</sup> Ch. Zimmer, Progr. Nucl. Acid. Res. and Mol. Biol., v. 15, 285 (1975). <sup>4</sup> Г. В. Гурский, Молек. бнол., т. 3, 749 (1969). <sup>5</sup> H. M. Sobell, S. C. Jain, J. Mol. Biol., v. 68, 21 (1972). <sup>6</sup> G. Luck, H. Triebel et al, Nucl. Acid. Res., v. 1, 503 (1974). <sup>7</sup> Ch. Zimmer, K.E. Reinert et al, J. Mol. Biol., v. 58, 329 (1971). <sup>8</sup> A. S. Zasedatelev, G. V. Gursky et al., Mol. Biol. Rep., v. 1, 337 (1974). <sup>9</sup> A.K. Krey, F. E. Hahn, FEBS Letters, v. 10, 175 (1970). <sup>10</sup> A. M. Колчинский, А. Д. Мирзабеков и др., Молек. бпол., т. 9, 19 (1975). <sup>11</sup> A.K. Krey, R.G. Allison, F. E. Hahn, FEBS Letters, v. 29, 58 (1973). <sup>12</sup> Ch. Zimmer, G. Luck, I. Fric, Nucl. Acid. Res., v. 3, 1521 (1976). <sup>13</sup> G. V. Gursky, V. G. Tumanyan et al, Mol. Biol. Rep., v. 2, 413 (1976). <sup>14</sup> G. V. Gursky, V. G. Tumanyan et al, Mol. Biol. Rep., v. 2, 427 (1976).