

to the site with high hydrolysis rate; PuPu pair in —1-2 position and/or A in —3 position relative to the boundary of sites with low hydrolysis rate; some combinations of these features, but T always in —1 position for sites with intermediate rates. Relative hydrolysis rates of sites are the same for supercoiled and linear DNAs. An attempt is made to explain these results in terms of peculiarities of local DNA structure near the restriction site.

1. Drew H. R., Travers A. A. Structural functions in DNA: the influence of flanking sequence on nuclease digestion specificities // Nucl. Acids Res.—1985.—13, N 12.— P. 4445—4467.
2. Thomas M., Davis R. W. Studies on the cleavage of bacteriophage lambda DNA with *EcoRI* restriction endonuclease // J. Mol. Biol.—1975.—91, N 3.— P. 315—328.
3. Kinetic studies on the cleavage of adenovirus DNA by restriction endonuclease *EcoRI* / S. Forsblom, R. Rigler, M. Ehrenberg et al. // Nucl. Acids Res.—1976.—3, N 12.— P. 3255—3269.
4. Armstrong K., Bauer W. R. Preferential site-dependent cleavage by restriction endonuclease *PstI* // Ibid.—1982.—10, N 3.— P. 993—1007.
5. Armstrong K., Bauer W. R. Site-dependent cleavage of *pBR322* DNA by restriction endonuclease *HinfI* // Ibid.—1983.—11, N 12.— P. 4109—4126.
6. Nath K., Azzolina B. A. Cleavage properties of site-specific restriction endonucleases // Gene amplification and analysis / Ed. J. G. Chirikjan.—Amsterdam: Elsevier, 1981.— Vol. 1.— P. 113—130.
7. Gingeras T. R., Brooks J. E. Cloned restriction / modification system from *Pseudomonas aeruginosa* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1983.—80, N 1.— P. 402—406.
8. Wolfes H., Fliess A., Pingond A. A comparison of the structural requirements for DNA cleavage by the isoschizomers *HaeIII*, *BspRI* and *BsuRI* // Eur. J. Biochem.—1985.—150, N 1.— P. 105—110.
9. Parker R. C., Watson R. M., Vinograd J. Mapping of closed circular DNAs by cleavage with restriction endonucleases and calibration by agarose gel electrophoresis // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1977.—74, N 3.— P. 851—855.
10. Ферур А. Структура и механизм действия ферментов.— М.: Мир, 1980.— 432 с.
11. Konec S., Kiss A., Venetianer P. Biochemical characterization of the restriction-modification system of *Bacillus sphaericus* // Eur. J. Biochem.—1978.—89, N 2.— P. 523—529.
12. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование.— М.: Мир, 1980.— 479 с.
13. Sutcliffe J. G. Complete nucleotide sequence of the *Escherichia coli* plasmid *pBR322* // Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.—1979.—43.— P. 77—90.
14. Yanisch-Perron C., Vieira J., Messing J. Improved *M13* phage cloning vectors and host strains: nucleotide sequences of the *M13mp18* and *pUC19* vectors // Gene.—1985.—33, N 1.— P. 103—109.
15. Nucleotide sequence of small *ColEI* derivatives: structure of the regions essential for autonomous replication and colicin EI immunity / A. Oka, N. Nomura, M. Morita et al. // Mol. and Gen. Genet.—1979.—172, N 2.— P. 151—159.
16. Lu A.-L., Jack W. E., Modrich P. DNA determinants important in sequence recognition by *EcoRI* endonuclease // J. Biol. Chem.—1981.—256, N 24.— P. 13200—13206.
17. Kinked DNA in crystalline complex with *EcoRI* endonuclease / C. A. Frederick, J. Grable, M. Melia et al. // Nature.—1984.—309, N 5966.— P. 327—331.
18. Kalladine C. R. Mechanics of sequence-dependent stacking of bases in B-DNA // J. Mol. Biol.—1982.—161, N 2.— P. 343—352.

Ин-т молекуляр. генетики АН СССР, Москва

Получено 14.01.87

УДК 577.2

СПЕЦИФИЧНОСТЬ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЛИЦИНА И ЕГО МЕТИЛИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ С ОСНОВАНИЯМИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ПО ДАННЫМ ЯДЕРНОГО МАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА

В. И. Брусков, В. П. Кутышенко

Введение. Исследование взаимодействия мономерных компонентов белков и нуклеиновых кислот представляет интерес как один из подходов, позволяющих вычлениить и оценить роль отдельных элементарных взаимодействий, лежащих в основе образования специфических белково-нуклеиновых комплексов. Результаты, полученные в таких модельных исследованиях, обобщены в обзорах [1, 2].

Ранее для определения характера взаимодействия аминокарбоксильного диполя глицина с ДНК методами термического плавления и кругового дихроизма (КД) изучено влияние глицина на термостабильность и конформацию ДНК [3, 4]. Полученные результаты свидетельствовали о существовании двух типов взаимодействий в этой системе: стабилизирующего структуру ДНК электростатического взаимодействия аминокарбоксильного диполя глицина с фосфатными группами и дестабилизирующего специфического взаимодействия амино- и карбоксилат-ионов глицина с гуанином и цитозином в односпиральных участках ДНК. На специфичность взаимодействия глицина с гуанином и цитозином указывает уменьшение температуры и температурного интервала плавления ДНК [3], а также избирательное увеличение растворимости гуанозина и цитозина под влиянием глицина [5].

Кроме того, методом ЯМР была показана специфичность взаимодействия заряженной карбоксильной группы с гуанином в результате образования водородных связей между карбоксилат-ионом и N1—H и N2—H₂-группами гуанина [6—8] в диметилсульфоксиде (Me₂SO) и воде. Причем это взаимодействие является более сильным, чем взаимодействие гуанина с цитозином [8].

Цель настоящей работы заключалась в изучении методом ЯМР взаимодействия амино- и карбоксилат-ионов глицина и его метилированных аналогов (O- и N-метилглицина) с основаниями пукленновых кислот.

Материалы и методы. Спектры протонного магнитного резонанса (ПМР) сняты на спектрометре ЯМР «Bruker» (ФРГ) WM-400 на частоте 400 МГц. В качестве растворителя использовали Me₂SO-d₆ с атомной долей изотопа 99 % (ВО «Изотоп», Моск. отд-ние), смесь Me₂SO с H₂O (3:1) и H₂O с 5%-ной добавкой D₂O. Для удаления примесей воды Me₂SO выдерживали над свежепрокаленными молекулярными ситами (0,3—0,4 м). В качестве внутреннего эталона использовали тетраметилсилан (ТМС) для растворов в Me₂SO и Me₂SO с H₂O и натрий-2,2-диметилсилантан-5-сульфонат (ДСС) в водных растворах. Для уменьшения интенсивности сигнала от протонов воды применяли селективное насыщение сигнала воды мощным радиочастотным полем в течение 1,5 с (время задержки перед каждым накоплением). Спектры являются результатом Фурье-преобразования 16 накоплений. Полная спектральная ширина составляет 6000 Гц.

Аденозин и гуанозин производства НПО «Биолар» (Олайне, СССР). Глицин, цитидин, уридин, саркозин, гуанозин-5'-монофосфат Li-соль и цитидин-5'-монофосфат Na-соль (GMP и CMP) — все х. ч., «Reanal» (ВНР). Литиевую соль GMP получали ионообменной хроматографией на колонке ДЭАЭ-сефадекса А-25. Метилловый эфир глицина (гидрохлорид) получен химической модификацией глицина по методике [9]. Все растворы имели нейтральные значения pH без использования буфера. LiCl·H₂O (о. с. ч.) высушивали несколько часов в вакууме при нагреве до 95 °С.

Результаты и обсуждение. Избирательное взаимодействие O-метилглицина с нуклеозидами в Me₂SO. Низкая растворимость глицина в Me₂SO не позволяет исследовать его взаимодействие с нуклеозидами в этом растворителе. Для изучения специфичности взаимодействия аминогруппы с основаниями нуклеиновых кислот методом ЯМР исследовано взаимодействие O-метилглицина с нуклеозидами в Me₂SO. Положение и интенсивность резонанса аминогруппы O-метилглицина в Me₂SO свидетельствуют о существовании ее в заряженной NH₃⁺-форме. Из четырех исследованных нуклеозидов (аденозин, гуанозин, уридин и цитидин) только гуанозин и цитидин обнаруживают существенные изменения в спектре при добавлении эфира глицина, свидетельствующие о взаимодействии.

В случае гуанозина происходит смещение в сторону слабого поля резонансов N1—H и N2—H₂-протонов на 0,13 и 0,14 м. д. (табл. 1, рис. 1). Как известно, N1—H и N2—H₂-протоны гуанина специфически взаимодействуют с ионами хлора [10]. Для проверки влияния присутствующего в O-метилглицине иона хлора сняты спектры ПМР гуа-

нозина и цитидина с эквимолярным количеством LiCl. В присутствии LiCl происходит сдвиг в сторону слабого поля резонансов N1—H- и N2—H₂-протонов на 0,16—0,17 м. д., что больше, чем в случае O-метилглицина. Этот результат убедительно показывает, что сдвиг в сторону слабого поля сигналов N1—H- и N2—H₂-протонов гуанозина происходит под влиянием противоионов хлора в O-метилглицине. Небольшой сдвиг (0,04 м. д.) в сторону сильного поля резонанса заряженной

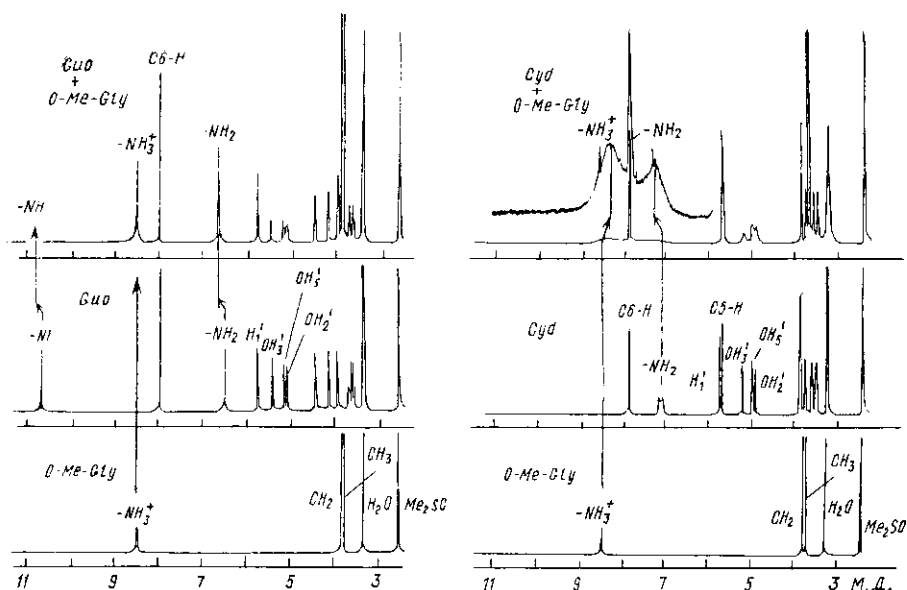


Рис. 1. Спектры ПМР в Me₂SO. слева — O-метилглицина, гуанозина и их смеси; справа — O-метилглицина, цитидина и их смеси. Все концентрации равны 0,03 М. Температура 300 К. Химические сдвиги относительно внутреннего эталона TMC. Стрелками показаны изменения сдвигов NH-, NH₂- и NH₃⁺-групп при образовании комплексов

Fig. 1. NMR spectra in Me₂SO of O-methylglycine, guanosine and their mixture (on the left); O-methylglycine, cytidine and their mixture (on the right). All the concentrations are 0.03 M. The temperature is 300 K. Chemical shifts are estimated relative to TMS as an internal standard. Arrows show changes in chemical shifts of NH-, NH₂- and NH₃⁺-groups at the formation of complexes

аминогруппы NH₃⁺ O-метилглицина служит указанием на ее взаимодействие вероятнее всего, с атомами O6 и N7 гуанина [11].

Наиболее значительные изменения под влиянием O-метилглицина происходят в спектре цитидина. Наблюдается сильное уширение и сме-

Таблица 1

Химические сдвиги резонансов протонов гуанозина и цитидина и их комплексов с O-метилглицином и LiCl в Me₂SO-d₆, м.д.

Chemical shifts of proton resonances of guanosine and cytidine and their complexes with O-methylglycine hydrochloride and LiCl in Me₂SO-d₆, p.p.m.

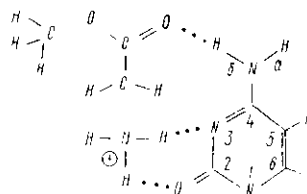
Образец	NH ₃ ⁺ O-MeGly	N1-H(G)	N2-H ₂ (G)	N4-H ₂ (C)		C8-H	C6-H	C5-H
				H _a	H _б			
Guo	—	10,608	6,440	—	—	7,927	—	—
Guo+O-MeGly·HCl	8,386	10,737	6,580	—	—	7,923	—	—
Guo+LiCl	—	10,771	6,610	—	—	7,921	—	—
Cyd	—	—	—	7,143	7,081	—	7,834	5,700
Cyd+O-MeGly·HCl	8,347	—	—	7,283,	сильное уширение	—	7,850	5,738
Cyd+LiCl	—	—	—	7,206	7,070	—	7,841	5,723
O-MeGly·HCl	8,426	—	—	—	—	—	—	—

Примечание. T=300 К. Внутренний эталон TMC. Все концентрации равны 0,03 М. Точность определения химических сдвигов ±0,002 м.д.

шение в сторону сильного поля сигнала заряженной аминогруппы О-метилглицина, а также уширение и смещение в сторону слабого поля сигнала аминогруппы цитидина (рис. 1, табл. 1). Изменение сигнала NH_3^+ -группы О-метилглицила зависит от содержания в Me_2SO примеси воды и возрастает с увеличением последней. Полученные результаты свидетельствуют об образовании специфического комплекса между NH_3^+ -группой аналога глицина и цитозином, вероятно, с участием O2- и N3-атомов [11]. Одновременно происходит образование водородной связи между карбонильной группой О-метилглицина и аминогруппой

Рис. 2. Схема взаимодействия О-метилглицина с цитозином посредством образования водородных связей карбонильной и NH_3^+ -группами О-метилглицина с NH_2 -группой и N3- и O2-атомами цитозина соответственно по данным ЯМР

Fig. 2. Scheme of O-methylglycine interaction with cytosine by hydrogen bonds' formation of carbonyl and NH_3^+ -groups of O-methylglycine with NH_2 -group and N3, O2 atoms of cytosine as to the NMR data



цитидина (рис. 2), о чем свидетельствуют уширение и сдвиг сигнала последней в сторону слабого поля. Образование комплекса, по-видимому, сопровождается дегидратацией заряженной аминогруппы О-метилглицина и, как следствие этого, приводит к сдвигу ее резонанса в сторону сильного поля. Взаимодействие цитозина с рядом метиловых эфиров аминокислот путем образования водородных связей с карбонильной группой и аминогруппой было показано ранее методом инфракрасной (ИК) спектроскопии [12]. Преимущественный вклад аминогруппы глицина в комплексообразование с O2- и N3-атомами цитозина и O6- и N7-атомами гуанина получен в расчетах энергии межмолекулярных взаимодействий [11].

Ионы хлора оказывают слабое воздействие и на цитозин, а именно на H_a -протон аминогруппы, не принимающий участия в спаривании с гуанином (сдвиг в сторону слабого поля на 0,063 м. д.), а также частично на C5—H- и C6—H-протоны (C5—H > C6—H, табл. 1).

Конкуренция метиловых производных глицина за образование H-связей в G—C-парах нуклеозидов в растворе $\text{Me}_2\text{SO}:\text{H}_2\text{O}$ (3:1). Для выявления роли карбоксилат- и амино-ионов в комплексообразовании с нуклеотидными основаниями интересно сравнить взаимодействие последних с О- и N-метилглицином. Очень низкая растворимость N-метилглицина не позволяет сделать этого в Me_2SO . Однако чувствительность метода ЯМР дает возможность провести сравнение при добавлении 25 % воды к Me_2SO , хотя известно, что увеличение содержания воды приводит к существенному уменьшению констант ассоциации [8]. Ранее показана конкуренция карбоксилат-иона за образование водородных связей в паре гуанозина с цитидином в растворе $\text{Me}_2\text{SO}:\text{H}_2\text{O}$ (3:1) [8]. В аналогичных условиях нами исследованы образование комплекса гуанозина и цитидина с О- и N-метилглицином и конкуренция метилированных производных глицина за H-связи при образовании G—C-пары. Полученные результаты представлены в табл. 2.

При добавлении О-метилглицина к цитидину наблюдается очень сильное уширение H_a - и H_b -протонов N4— H_2 -группы основания (табл. 2). В случае N-метилглицина происходит сдвиг в сторону слабого поля на 0,032 м. д. сигнала H_a -протопа, а также более сильный сдвиг в ту же сторону на 0,044 м. д. и уширение сигнала H_b -протона цитозина. Эти данные свидетельствуют о более сильном взаимодействии цитозина с О-метилглицином по сравнению с N-метилглицином, т. е. о преимущественном вкладе в комплексообразование NH_3^+ -группы в соответствии с рис. 2. Влияние иона хлора на цитозин сказывается только на сдвиге сигнала H_a -протона (табл. 2).

В случае гуанозина добавление N-метилглицина сопровождается сильным сдвигом в сторону слабого поля на 0,13 м. д. сигнала N2—

H_2 -группы гуанина и сильным уширением сигнала группы $N1-H$. Эти изменения существенно больше обусловленных O -метилглицином и ионом хлора (табл. 2). Полученные результаты подтверждают специфическое комплексообразование карбоксилат-иона N -метилглицина с $N1-H$ - и $N2-H_2$ -группами гуанина [6—8].

В случае O -метилглицина характер комплексообразования изменяется. Сдвиг в сторону слабого поля сигнала $N2-H_2$ -группы гуанина на 0,039 м. д. таков, как и обусловленный ионами хлора (табл. 2). Несколько больший сдвиг в сторону слабого поля сигнала $N1-H$ -группы гуанина, возможно, свидетельствует о ее участии в комплексообразовании.

Таблица 2

Химические сдвиги резонансов протонов гуанозина, цитидина и смеси гуанозина и цитидина с O - и N -метилглицином (саркозином) и $LiCl$ в растворе $Me_2SO-d_6:H_2O$ (3:1), м.д.

Chemical shifts of proton resonances of guanosine, cytidine and mixture of guanosine and cytidine with O -methylglycine and N -methylglycine (sarcosine) in $Me_2SO-d_6:H_2O$ (3:1) solutions, p.p.m.

Образец	$N1-H(G)$	$N2-H_2(G)$	$N4-H_2(C)$		$C8-H$	$C6-H$	$C5-H$
			H_a	H_b			
Guo	10,955	6,522	—	—	7,967	—	—
Guo+O-MeGly	11,00, уширение	6,561	—	—	7,975	—	—
Guo+N-MeGly	Сильное уширение	6,652	—	—	7,968	—	—
Guo+LiCl	10,982, уширение	6,563	—	—	7,972	—	—
Cyd	—	—	7,376	6,958	—	7,880	5,791
Cyd+O-MeGly	—	—	Сильное	уширение	—	7,892	5,793
Cyd+N-MeGly	—	—	7,408	7,002, уширение	—	7,881	5,794
Cyd+LiCl	—	—	7,410	6,958	—	7,882	5,796
Guo+Cyd	11,14	6,613	7,418	7,064, уширение	7,968	7,894	5,803
Guo+Cyd+O-MeGly	Сильное уширение	6,630	Сильное	уширение	7,979	7,908	5,808
Guo+Cyd+N-MeGly	Сильное уширение	6,700	7,446	7,091	7,971	7,898	5,808

Примечание. $T=300$ К. Внутренний эталон ТМС. Концентрации нуклеозидов 0,005 М, концентрации метилированных производных глицина и $LiCl$ 0,133 М. Точность определения химических сдвигов $\pm 0,005$ м.д.

При образовании $G-C$ -пары в спектрах гуанозина и цитидина происходят следующие изменения: сдвиг в сторону слабого поля сигналов $N1-H$ -протона гуанина на 0,14 м. д., $N2-H_2$ -группы гуанина — на 0,03 м. д., уширение и сдвиг резонансов H_b - и H_a -протонов цитозина на 0,11 и 0,035 м. д. соответственно. Эти результаты показывают образование водородных связей в паре гуанина с цитозином при участии $N1-H$ - и $N2-H_2$ -групп гуанина и H_b -протона $N4-H_2$ -группы цитозина, что согласуется с данными работы [8].

При добавлении O -метилглицина к $G-C$ -паре нуклеозидов происходит следующее: сильное уширение сигналов протонов от $N4-H_2$ -группы цитозина; небольшой сдвиг в сторону слабого поля сигнала $N2-H_2$ -группы и $C8-H$ -протона гуанина, а также сдвиг в сторону слабого поля сигнала $C6-H$ -протона цитозина ($N2-H_2 > C6-H > C8-H$). Изменения же в спектрах комплекса гуанозина с цитидином под влиянием N -метилглицина имеют существенно другой характер. Сигнал аминогруппы гуанина сдвигается в сторону слабого поля на $\sim 0,07$ м. д., а сигналы H_a - и H_b -протонов аминогруппы цитозина — на 0,03 м. д. в ту же сторону.

В работе [8] обнаружено, что карбоксилат-ион, разрушая G—C-пару за счет образования H-связей с N1—H и N2—H₂-группами гуанина, приводит к сдвигу сигнала N2—H₂-группы гуанина в сторону слабого поля, а сигнала H₆-протона N4—H₂-группы цитидина — в сторону сильного поля.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о конкуренции метилпроизводных глицина за водородную связь в паре G—C: O-метилглицин связывается с цитозином, а N-метилглицин — с гуанином.

Таблица 3

Химические сдвиги резонансов протонов оснований цитидина, CMP и GMP и их смеси с глицином в воде, м.д.

Chemical shifts of proton resonances of cytidine, GMP and CMP and their mixture with glycine in water, p.p.m.

Образец	Протон				N4—H ₂ (C)	
	C8—H	C6—H	C5—H	N2—H ₂ (G)	H _a	H ₆
Cyd	—	7,854	5,885	—	7,263	6,776
Cyd+Gly	—	7,853	5,886	—	7,269	6,792
Cyd+GMP	8,200	7,800	5,885	6,431	7,241	6,814
Cyd+GMP+Gly	8,196	7,799	5,885	6,451	7,247	6,817
GMP	8,209	—	—	6,356	—	—
GMP+Gly	8,204	—	—	6,380	—	—
CMP	—	8,126	5,998	—	7,278	6,728
CMP+Gly	—	8,118	5,993	—	7,283	6,748
GMP+CMP	8,206	8,093	5,978	6,424	7,255	6,739
GMP+CMP+Gly	8,205	8,090	5,979	6,440	7,264	6,755

Примечание. T=275 К. Внутренний эталон DS-Na. Концентрации цитидина и нуклеотидов 0,1 М. Концентрация глицина 0,2 М. Точность определения химических сдвигов ±0,005 м.д.

Взаимодействие глицина с цитидином, CMP и GMP в воде. В этом разделе предпринята попытка обнаружить взаимодействие в воде глицина с цитидином, CMP и GMP и его конкуренцию за образование H-связей с G—C-парой оснований. К сожалению, низкая растворимость гуанозина в воде не позволяет использовать его для этих целей. Кроме того, обнаружение водородных связей между основаниями нуклеотидов усложняется из-за связывания аминогрупп с фосфатами [14] и самоассоциации GMP [11, 15]. Однако в литературе имеются указания на возможность обнаружения таких H-связей в воде в концентрированных растворах и при низких температурах для G—C-пар, образуемых нуклеотидами [8, 16] и динуклеозидмонофосфатами [17, 18]. Самоассоциация GMP минимальна при использовании литиевой соли нуклеотида [15], которую мы использовали в данной работе.

В воде в присутствии глицина происходит сдвиг в сторону слабого поля сигнала N2—H₂-группы гуанина в GMP на 0,024 м. д. и H₆-протона N4—H₂-группы цитозина в цитидине и CMP на 0,016 и 0,02 м. д. соответственно, тогда как изменение сигнала H_a-протона незначительно (табл. 3).

Такие изменения спектров ПМР свидетельствуют о взаимодействии глицина с основаниями в воде. Спектры смесей GMP с цитидином и CMP в воде характеризуются смещением в сторону сильного поля сигналов протонов цитозина C6—H, C5—H и N4—H_a (табл. 3). При этом сигналы от аминогруппы гуанина и протона цитозина N4—H₆ значительно сдвигаются в сторону слабых полей. Сигнал протона гуанина C8—H слегка сдвинут в сторону сильных полей. Полученные данные указывают на возможное наличие в водных растворах ассоциатов гуанина с цитозином как посредством H-связей, так и по типу стэкинга. При добавлении глицина к комплексам GMP с цитидином и CMP сигнал протонов аминогруппы гуанина совершает дополнительный сдвиг

в сторону слабого поля, незначительно сдвигаются в ту же сторону сигналы протонов аминогруппы цитозина, а сигналы протонов цитозина C6 — Н и C5 — Н, а также протона гуанина C8 — Н остаются на месте. По-видимому, глицин оказывает влияние на водородносвязанные комплексы GMP с CMP и цитидином, конкурентно разрушая G — C-пары и не затрагивая стопкообразные ассоциаты.

Таким образом, совокупность полученных данных показывает специфическое взаимодействие карбоксилат- и амино-ионов глицина с гуанином и цитозином. Эти результаты подтверждают вывод о том, что влияние глицина на характер плавления ДНК [3, 4] может быть обусловлено прямым взаимодействием глицина с гуанином и цитозином в односпиральных участках ДНК. Как элементы структуры белка амино- и карбоксилат-ионы могут принимать участие в образовании нуклеопротендных комплексов и белково-нуклеиновом узнавании. Возможное дестабилизирующее действие карбоксилат- и амино-ионов на G — C-пары ДНК может играть определенную роль также при функционировании белков, расплетающих двойную спираль ДНК.

Авторы выражают благодарность М. С. Окуну за помощь в снятии ряда спектров ЯМР.

SPECIFICITY OF INTERACTION OF GLYCINE AND ITS METHYL DERIVATIVES WITH NUCLEIC ACID BASE FROM NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE DATA

V. I. Bruskov, V. P. Kutysenko

Institute of Biological Physics,
Academy of Sciences of the USSR, Pushchino, Moscow Region

Summary

Interaction of glycine and its O- and N-methyl derivatives with nucleic acid bases have been investigated by the NMR method. O-methylglycine selectively interacts with cytosine and guanine in dimethylsulphoxide (DMSO) solution. Cytosine forms a complex where NH_3^+ -group of O-methylglycine specifically interacts with O2 and N3 atoms with simultaneous formation of hydrogen bonding between carbonyl group and NH_2 -group of cytosine. For guanine the complex formation is, probably, due to interaction of NH_3^+ group with O6, N7 atoms and hydrogen bonding of carbonyl group with N1-H-group. The methylglycine derivatives form complexes with cytosine and guanine and compete for hydrogen bonds formation in guanine-cytosine pairs in DMSO: H_2O (3:1) solutions. But O-methylglycine forms a complex preferably with cytosine, whereas N-methylglycine — with guanine. The data obtained indicate the interaction of glycine with cytidine, CMP and GMP in water.

1. Helene C., Maurizot J. C. Interactions of oligopeptides with nucleic acids // *CRC Crit. Rev. Biochem.*— 1981.— 10, N 3.— P. 213—258.
2. Helene C., Lancelot G. Interaction between functional groups in protein-nucleic acid association // *Progr. Biophys. and Mol. Biol.*— 1982.— 39, N 1.— P. 1—68.
3. Смольянинова Т. И., Брусков В. И., Кашипарова Е. В. Модельные исследования ДНК-белковых взаимодействий. I. Влияние аминокарбоксильной и амидной групп аминокислот на термостабильность и конформацию ДНК // *Молекуляр. биология.*— 1985.— 19, № 4.— С. 992—1000.
4. Смольянинова Т. И., Брусков В. И. О механизме взаимодействия глицина с ДНК по данным спектрофотометрического термического плавления и кругового дихроизма // *Тез. докл. V Всесоюз. конф. по спектроскопии биополимеров.*— Харьков, 1984.— С. 213—215.
5. Bruskov V. I. Specificity of interaction of nucleic acid bases with hydrogen bond forming amino acids // *Stud. biophys.*— 1978.— 67, N 1.— P. 43—44.
6. Брусков В. И., Бушуев В. И. Исследование методом протонного магнитного резонанса комплексообразования между нуклеозидами и соединениями, моделирующими аминокислотные остатки белков, в диметилсульфоксиде // *Биофизика.*— 1977.— 22, № 1.— С. 26—31.
7. Lancelot G., Helene C. Selective recognition of nucleic acids by proteins: The specificity of guanine interaction with carboxylate ions // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*— 1977.— 74, N 11.— P. 2872—2875.

8. *Lancelotti G., Mayer R.* The specific interactions of guanine with carboxylate ions in water // *FEBS Lett.*— 1981.— **130**, N 1.— P. 7—11.
9. *Гринштейн Дж., Виниц М.* Химия аминокислот и пептидов.— М.: Мир, 1965.— 425 с.
10. *Plaush A. C., Sharp R. R.* Ion binding to nucleosides. A ^{35}Cl and ^7Li NMR study // *J. Amer. Chem. Soc.*— 1976.— **98**, N 25.— P. 7973—7980.
11. *Rendell M. S., Hartos J. P., Rein R.* Specificity in the genetic code: The role of nucleotide base— amino acid interaction // *Biopolymers.*— 1971.— **10**, N 11.— P. 1083—1091.
12. *Гуляев А. П., Самойленко С. А., Желтовский Н. В.* Спектроскопическое изучение взаимодействий между нуклеотидными основаниями и эфирами аминокислот в диметилсульфоксиде // *Молекуляр. биология.*— 1981.— **15**, № 6.— С. 1295—1302.
13. *Neurohr K. J., Mantsch H. H.* A proton NMR study of the intermolecular association of naturally occurring nucleotides in aqueous solution // *Can. J. Spectrosc.*— 1980.— **25**, N 4.— P. 106—109.
14. *Raszka M.* Mononucleotides in aqueous solution: Proton magnetic resonance study of amino groups // *Biochemistry.*— 1974.— **13**, N 22.— P. 4616—4622.
15. *Alkali metal ion specificity in the solution ordering of a nucleotide 5'-guanosine monophosphate* / T. J. Pinnavaia, C. L. Marshall, C. M. Mettler et al. // *J. Amer. Chem. Soc.*— 1978.— **100**, N 11.— P. 3625—3629.
16. *Raszka M., Kaplan N. O.* Association by hydrogen bonding of mononucleotides in aqueous solution // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*— 1972.— **69**, N 8.— P. 2025—2029.
17. *Young M. A., Krugh T. R.* Proton magnetic resonance studies of double helical oligonucleotides. The effect of base sequence on the stability of deoxydinucleotide dimers // *Biochemistry.*— 1975.— **14**, N 22.— P. 4841—4847.
18. *Krugh T. R., Laing J. W., Young M. A.* Hydrogen-bonded complexes of the ribonucleoside monophosphates in aqueous solution. Proton magnetic resonance studies // *Ibid.*— 1976.— **15**, N 6.— P. 1224—1228.

Ин-т биол. физики АН СССР, Пушкино Моск. обл.

Получено 08.04.86