

12. Falvey A. K., Staechelin T. Structure and function of mammalian ribosomes. 1. Isolation and characterization of active liver ribosomal subunits // J. Mol. Biol.—1970.—53, N 1.—P. 1—9.
13. Автоматический синтез олигодезоксирибонуклеотидов фосфитамидным методом на установке «Виктория-4М» / С. М. Грязнов, В. К. Потапов, А. А. Елов и др. // Биол. орг. химия.—1986.—12, № 7.—С. 988—991.
14. Maxam A. M., Gilbert W. A new method for sequencing DNA // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1977.—74, N 2.—P. 560—564.
15. Zubay C. The isolation and fractionation of soluble ribonucleic acid // J. Mol. Biol.—1962.—4, N 3.—P. 347—356.
16. Gillam J. C., Tener C. M. The use BD-cellulose in separation of transfer RNA's // Meth. Enzymol.—1971.—20, pt C.—P. 55—70.
17. Nirenberg M., Leder P. RNA codewords and protein synthesis // Science.—1964.—145, N 3639.—P. 1399—1407.
18. Duplex-hairpin transitions in DNA: NMR studies on CGCGTATACGCG / D. E. Weninger, S. H. Chou, D. R. Hare, B. R. Reid // Nucl. Acids Res.—1985.—13, N 10.—P. 3755—3765.
19. Hairpin formation in synthetic oligonucleotides / C. W. Hilbers, C. A. G. Haasroot, S. H. de Bruijn et al. // Biochimic.—1985.—67, N 7.—P. 685—695.
20. Изучение поли(U) и поли(dT)-зависимого связывания Phe-тРНК^{Phe} с 30S субъединицами рибосом *Escherichia coli* / К. А. Солдаткин, А. П. Потапов, А. П. Солдаткина, А. В. Ельская // Биополимеры и клетка.—1988.—4, № 4.—С. 193—196.
21. Grosjean H., Houssier C., Cedergren R. Anticodon-anticodon interactions and tRNA sequence comparison: approaches to codon recognition // Nato adv. res. workshop—Rennes, 1985.—P. 1—15.

Ин-т молекуляр. биологии и генетики АН УССР, Киев
МГУ им. М. В. Ломоносова

Получено 23.04.88

DEOXYRIBOANALOG OF THE ANTICODON ARM OF YEAST tRNA^{Phe}
IS NOT ABLE TO CODON-DEPENDENT BINDING TO SMALL RIBOSOMAL
SUBUNITS OF ESCHERICHIA COLI AND THE RABBIT LIVER

K. A. Soldatkin, O. V. Kovalchuk, A. P. Potapov, A. V. Elskaya,
N. F. Krynetskaya, N. G. Dolinnaya, Z. A. Shabarova

Institute of Molecular Biology and Genetics,
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

S u m m a r y

Oligonucleotide d(CCAGACTGAAGATCTGG) has been used to study influence of sugar-phosphate backbone modifications on the interaction of tRNA anticodon region with ribosomes. Its sequence corresponds to nonmodified tRNA^{Phe}_{yeast} anticodon arm. The oligonucleotide is shown to form an intramolecular «loop», but nevertheless it is not able to be bound to 30S and 40S ribosomes of *E. coli* and rabbit liver in the presence of ribo-(poly(U)) or deoxyribo-(poly(dT)) messenger. The addition of neomycin B promotes changes in the situation.

УДК 547.963.3

Д. Б. Беглов, А. А. Липанов, В. П. Чуприна

СТЕРИЧЕСКАЯ ДОСТУПНОСТЬ ДНК ДЛЯ МОЛЕКУЛ ВОДЫ
И ИОНОВ ПРИ В — D-ПЕРЕХОДЕ *

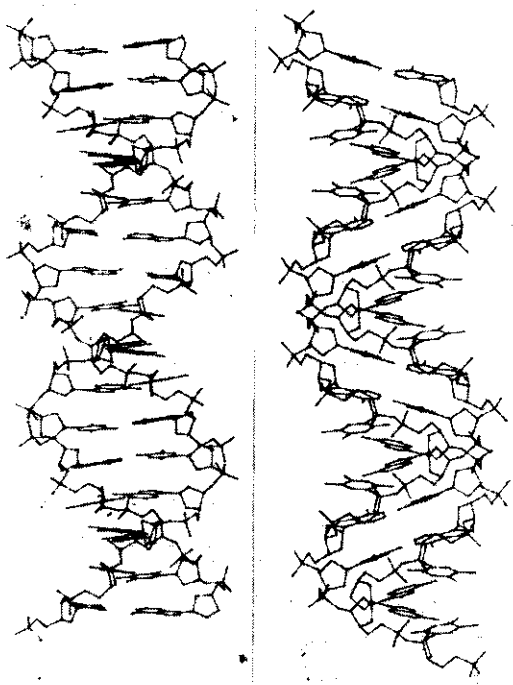
Методом Ли и Ричардса рассчитана стерическая доступность атомов ДНК в В- и D-формах для молекул воды. Показано, что уменьшение доступности нуклеотидов в D-форме, отражающее более экономную гидратацию D-конформации по сравнению с В-конформацией ДНК, происходит главным образом за счет сужения гликозидного желобка двойной спирали. Оценена также доступность D-формы для ионов натрия. По результатам расчетов обсужден механизм В — D-перехода в АТ-богатых ДНК.

* Представлена членом редколлегии М. Д. Франк-Каменецким.

Одним из факторов, приводящих к конформационным перестройкам в ДНК, является снижение относительной влажности (ОВ) или понижение активности воды в растворе [1]. Конформации ДНК, в которых атомные группировки гидратируются более экономно, получают естественное преимущество в условиях пониженной ОВ. В работе [2] предложен конкретный механизм, объясняющий стабилизацию А- и Z-форм ДНК по сравнению с В-формой в терминах экономии в гидратации фосфатных групп. Авторы обнаружили, что если в кристаллах ДНК в

Модели В-формы (слева) и D-формы (справа) ДНК в так называемых «сморщенных» конформациях, полученные по данным рентгеновской дифракции от волокон соответственно поли(dG—dC): поли(dG—dC) и поли(dA—dT): поли(dA—dT) [5]. В тексте они обозначены как B_w и D_w . Средние расстояния, например, между атомами О1Р соседних фосфатов в этих структурах одинаковы и равны 0,74 нм. Можно видеть, что гликозидный желобок в D-форме существенно уже по сравнению с В-формой ДНК

DNA B- (left) and D-form (right) models in the so-called «wrinkled» conformations obtained from fibre diffraction data for poly(dG-dC): poly(dG-dC) and poly(dA-dT): poly(dA-dT), respectively [5]. In the text they are designated as B_w and D_w . Average distances, e. g. between O1P atoms of neighbouring phosphates in these structures are equal to the same value of 0.74 nm. One can see that the minor groove in the D-form is considerably narrower as compared with the B-form



В-форме, стабильной при высокой влажности, фосфаты гидратированы индивидуально, то в А- и Z-формах образуются водные мостики между кислородами соседних вдоль цепи фосфатных групп (одна молекула воды на два фосфата), которые в данных формах ДНК заметно сближены по сравнению с В-формой. Аналогичный подход применим, однако, для объяснения В—D-перехода, сопровождающегося дополнительным закручиванием двойной спирали. Расстояния между кислородами фосфатов вдоль цепи в D-форме почти такие же, как и в В-форме ДНК (рисунок), хотя D-конформация, подобно А-и Z-формам, стабильна при пониженной ОВ.

В настоящей работе мы рассчитали изменение стерической доступности химических группировок ДНК для молекул воды при В—D-переходе, который экспериментально наблюдался в волокнах ДНК из А—Т-пар: поли(dA—dT): поли(dA—dT) и поли[d(AAT)]: поли[d(ATT)] [1]. Был использован метод Ли и Ричардса [3]. В этом методе радиус R_a каждого атома увеличивают на радиус пробной сферы R_n , например, молекулы воды или иона. Доступная поверхность каждого атома определяется затем по площади наружной части сферы R_a+R_n , связанной с данным атомом, а их сумма дает доступную поверхность всей макромолекулы. В качестве модели В-формы ДНК рассматривали структуры литиевой соли природной ДНК [4], обозначаемой ниже как B_s (от B-smooth), а также B_w -формы (от B-wrinkled) натриевой соли поли(dG—dC): поли(dG—dC) [5], координаты атомов которых получены методом рентгеновской дифракции в волокнах. В эти структуры была подставлена последовательность из чередующихся А—Т-пар. В случае

D-формы использовали рентгеноструктурные модели натриевых солей собственно поли(dA—dT) : поли(dA—dT) и поли[d(AAT)] : поли[d(ATT)] [5, 6], обозначаемые ниже как D_w и D_s соответственно.

Стерические доступности для одной из прежних моделей В-ДНК [7] (впоследствии уточненной [4]), а также для модели D_s-ДНК были рассчитаны ранее Альденом и Кимом [8]. Эти авторы рассматривали фрагменты двойной спирали из трех пар нуклеотидов и оценивали до-

Стерическая доступность атомных группировок ДНК в В- и D-формах для молекул воды и ионов натрия в расчете на пару нуклеотидов

Steric accessibility of DNA atomic groups in the B and D form for water molecules and sodium ions per nucleotide pair

| Модель | Доступность атомов оснований в гликозидном желобке, нм ² | Доступность атомов оснований в негликозидном желобке, нм ² | Доступность атомов сахара-фосфатной цепи, нм ² | Суммарная доступность пары нуклеотидов, нм ² |
|-----------------------------------|---|---|---|---|
| B _w (H ₂ O) | 0,18 | 0,65 | 2,81 | 3,64 |
| B _s (H ₂ O) | 0,16 | 0,68 | 2,88 | 3,72 |
| D _w (H ₂ O) | 0,02 | 0,72 | 2,69 | 3,43 |
| D _s (H ₂ O) | 0,00 | 0,67 | 2,40 | 3,07 |
| D _s (Na ⁺) | 0,06 | 0,71 | 2,33 | 3,10 |

Примечание. Обозначения моделей ДНК разъяснены в тексте.

ступность средней пары. Наши расчеты показали, однако, что избежать концевых эффектов можно, учитывая, как минимум, пять пар, поэтому приводимые ниже цифры для D_s-ДНК меньше таковых в работе [8].

Результаты расчетов для двух моделей В-ДНК и двух D-форм приведены в таблице. Как следует из таблицы и анализа доступностей отдельных атомов, уменьшение общей доступности пары нуклеотидов при В—D-переходе, отвечающее более экономной гидратации D-формы, происходит в значительной степени за счет меньшей гидратации атомов оснований узкого (гликозидного) желобка D-формы. Уменьшение доступности атомов сахара-фосфатной цепи происходит также главным образом в узком желобке. Со стороны же широкого желобка доступность атомов меняется слабо. В случае D_s модели поли[d(AAT)] : поли[d(ATT)] (в отличие от D_w-формы) основания в гликозидном желобке вообще недоступны для молекул воды (таблица), что вызывает естественное сомнение в точности этой модели. Альтернативой может быть размещение ионов в глубине гликозидного желобка [9]. Поскольку речь идет о натриевой соли, мы рассчитали доступность пары для пробной сферы радиусом 0,1 нм, соответствующей иону натрия. Выяснилось, что натрий может удобно взаимодействовать с полярными атомами N3 аденинов и O2 тиминнов аналогично случаю В-ДНК [9]. Вместе с тем наши оценки показали, что никаким способом не удастся получить октаэдрическую координационную геометрию, характерную для этого иона, поскольку натрий, взаимодействующий с N3А и O2Т в гликозидном желобке, оказывается, как и атомы оснований D_s-ДНК, недоступным молекулам воды. Все это указывает на необходимость уточнения модели D_s-ДНК, хотя наиболее существенные ее параметры (сильный наклон оснований, зауженный гликозидный желоб и т. п.) подтверждаются другими экспериментальными данными [1, 5], модельными расчетами [10, 11] и не вызывают сомнений.

Сужение гликозидного желобка в результате В—D-перехода (рисунк) и связанное с ним уменьшение доступности оснований позволяют говорить об экономии в гидратации атомов гликозидного желобка в этом случае. Ситуация существенно иная при В—А- и В—Z-переходах, где резкое сужение одного из желобков двойной спирали сопровождается существенным расширением противоположного [1] и где конформационное равновесие может быть действительно связано с экономией в гидратации фосфатных групп [2].

В—D-переход в отличие от В—А и В—Z является внутрисемейственным (в эксперименте удается наблюдать плавное изменение параметров двойной спирали в зависимости от ОВ [12]). Моделирование промежуточных конформаций указывает, что при этом происходит и плавное сужение гликозидного желобка. Таким образом, доступности атомов, приведенные в таблице, плавно уменьшаются на пути В—D-перехода. Особый механизм В—D-перехода, по-видимому, обусловлен определяющей ролью гидратации А—Т-пар оснований в гликозидном желобке, на дне которого располагаются электроотрицательные атомы N3А и O2Т, способные конкурировать за связывание молекул воды с фосфатными кислородами (D-форма наблюдалась только в ДНК из А—Т- или I—С-пар [1, 5], которые в гликозидном желобке неразличимы). GC-богатые ДНК, содержащие объемистую аминогруппу гуанина в гликозидном желобке, не переходят в D-форму [1]. В—D-переход затруднен здесь уже потому, что возникают стерические перекрывания аминогруппы гуанина с атомами оснований в гликозидном желобке D-формы. Кроме того, такой переход может оказаться менее выгодным из-за различий в гидратации А—Т- и G—С-пар [13], обусловленных все той же аминогруппой гуанина.

Плавное сужение гликозидного желобка на пути В—D-перехода является следствием его постепенного «высыхания» при уменьшении ОВ. При достижении равновесия в D-форме может быть удобно размещен двухслойный водный хребет [11], аналогичный наблюдавшемуся в кристаллах CGCGAATTCGCG [13] и в структуре поли(dA) : поли(dT) [14, 15]. В рамках приведенного рассмотрения несложно объяснить отсутствие В—D-перехода в случае поли(dA) : поли(dT), которое заранее очевидно, поскольку AA стэкинг может быть адаптирован к D-форме, что следует из структурного поведения поли[d(AAT)] : поли[d(ATT)] [6]. В-форма поли(dA) : поли(dT) (В_h-ДНК [16]) исходно обладает зауженным гликозидным желобком, где располагается водный хребет (две молекулы воды на пару нуклеотидов). Снижение ОВ не приведет здесь к экономии в гидратации атомов гликозидного желобка, что может способствовать стабилизации исходной конформации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот.— М.: Мир, 1987.—584 с.
2. Saenger W., Hunter W. N., Kennard O. DNA conformation is determined by economy in the hydration of phosphates groups // Nature.— 1986.—324, N 6095.— P. 385—388.
3. Lee B., Richards F. M. The interpretation of protein structure: estimation of static accessibility // J. Mol. Biol.— 1971.—55, N 3.— P. 379—400.
4. Heteronomous DNA / S. Arnott, R. Chandrasekaran, I. H. Hall, L. C. Puigjaner // Nucl. Acids Res.— 1983.—11, N 12.— P. 4141—4155.
5. Wrinkled DNA / S. Arnott, R. Chandrasekaran, L. C. Puigjaner et al. // Ibid.— N 5.— P. 1457—1474.
6. Structural details of a double-helix observed for DNAs containing alternating purine and pyrimidine sequences / S. Arnott, R. Chandrasekaran, D. W. L. Hukins et al. // J. Mol. Biol.— 1974.—88, N 2.— P. 523—533.
7. Arnott S., Hukins D. W. L. Optimised parameters for A-DNA and B-DNA // Biochem. and Biophys. Res. Commun.— 1972.—48, N 6.— P. 1504—1509.
8. Alden C. J., Kim S. H. Solvent-accessible surfaces of nucleic acids // J. Mol. Biol.— 1979.—132, N 3.— P. 411—434.
9. Structure of the B-DNA cationic shell as revealed by an X-ray diffraction study of CsDNA / V. N. Bartenev, Yu. I. Golovanov, K. A. Kapitonova et al. // Ibid.— 1983.— 169, N 1.— P. 217—234.
10. Chuprina V. P., Khutorshy V. E., Poltev V. I. Theoretical refinement of A- and B-conformation models of regular polynucleotides // Stud. biophys.— 1981.—85, N 2.— P. 81—88.
11. Solution structure of [d(A-T)₅]₂ via complete relaxation matrix analysis of two-dimensional nuclear overhauser effect spectra / E. Suzuki, N. Pattabiraman, G. Zon, T. L. James // Biochemistry.— 1986.—25, N 22.— P. 6854—6865.
12. Time-resolved X-ray diffraction studies of the B-D structural transition in the DNA double helix / A. Mahendrasingam, V. T. Forsyth, R. Hussain et al. // Science.— 1986.—233, N 4760.— P. 195—197.
13. Drew H. R., Dickerson R. E. Structure of a B-DNA dodecamer. Geometry of hydration // J. Mol. Biol.— 1981.—151, N 3.— P. 535—556.

14. Alexeev D. G., Lipanov A. A., Skuratovskii I. Ya. Poly(dA)·poly(dT) is a B-type double helix with a distinctively narrow minor groove // Nature.— 1987.— 325, N 6107.— P. 821—823.
15. Chuprina V. P. Anomalous structure and properties of poly(dA)·poly(dT) // Nucl. Acids Res.— 1987.— 15, N 1.— P. 293—311.
16. Излом А-Т-пары оснований в В₁-форме поли(дА):поли(дТ) / А. А. Липанов, Л. Б. Беглов, Д. Г. Алексеев, И. Я. Скуратовский // Биополимеры и клетка.— 1988.— 5, № 1.— С. 16—22.

Ин-т молекуляр. генетики АН СССР, Москва
И-и. ВЦ АН СССР, Пушкино Моск. обл.

Получено 12.09.88

DNA STERIC ACCESSIBILITY FOR WATER MOLECULES AND IONS IN THE CASE OF B-D TRANSITION

D. B. Beglov, A. A. Lipanov, V. P. Chuprina

Institute of Molecular Genetics, Academy of Sciences of the USSR, Moscow
Research Computer Centre,
Academy of Sciences of the USSR, Pushchino, Moscow Region

Summary

Steric accessibility of DNA atoms in the B and D forms for water molecules has been calculated by the Lee and Richards method. It is shown that a decrease in the D-form nucleotide accessibility, reflecting more economic hydration of the D conformation as against the DNA B conformation is mainly induced by the narrowing of the double helix minor groove. D-form accessibility for sodium ions has been estimated as well. B-D transition mechanism in the AT-rich DNAs is discussed with allowance for the results of calculations.