

4. Urabe H., Tominaga Y. Low-lying collective modes of DNA double helix by Raman spectroscopy // *Biopolymers*.—1982.—21, N 11.— P. 2477—2481.
5. Urabe H., Tominaga Y., Kubota K. Experimental evidence of collective vibrations in DNA molecule // *J. Chem. Phys.*—1983.—78, N 10.— P. 5937—5939.
6. Collective vibrational modes in molecular assembly of DNA and its application to biological systems. Low-frequency Raman spectroscopy / H. Urabe, H. Hayashi, Y. Tominaga et al. // *J. Chem. Phys.*—1984.—82, N 1.— P. 531—535.
7. Lindsay S. M., Powell J. W., Rupprecht A. Observation of low-lying Raman bands in DNA by tandem interferometry // *Phys. Rev. Lett.*—1984.—53, N 19.— P. 1853—1855.
8. Interhelical effects on the low-frequency modes and phase transitions of Li- and Na-DNA / C. Demarco, S. M. Lindsay, M. Pokorny et al. // *Biopolymers*.—1985.—24, N 11.— P. 2035—2040.
9. Raman spectroscopic study on low-frequency collective modes in self-associates of guanosine monophosphates / H. Urabe, Y. Sugawara, M. Tsukakoshi et al. // *Ibid.*—1987.—26, N 6.— P. 963—971.
10. Breathing models and induced resonant melting of the double helix / E. W. Prohofsky, K. C. Lu, L. L. van Zandt, B. F. Putnam // *Phys. Lett. A.*—1979.—70, N 5, 6.— P. 492—494.
11. Acoustic modes and nonbounded interactions of the double helix / W. N. Mei, M. Kohli, E. W. Prohofsky, L. L. van Zandt // *Biopolymers*.—1981.—20, N 4.— P. 833—852.
12. Far-infrared spectroscopy on oriented films of dry and hydrated DNA / A. Wittlin, L. Genzel, F. Kremer et al. // *Phys. Rev. A.*—1986.—34, N 1.— P. 493—500.
13. Chou K. C. Low-frequency collective motion in biomacromolecules and its biological functions // *Biophys. Chem.*—1988.—30, N 1.— P. 3—48.
14. Волков С. Н., Косевич А. М. Конформационные колебания двутяжевой ДНК.— Киев, 1986.—25 с.— (Препринт / АН УССР. Ин-т теор. физики; № 86-119Р).
15. Волков С. Н., Косевич А. М. О конформационных колебаниях ДНК // *Молекуляр. биология.*—1987.—21, № 3.— С. 797—806.
16. Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот.— М.: Мир, 1987.—584 с.
17. Volkov S. N., Kosevich A. M., Weinreb G. E. Spectrum of low-frequency vibrations of DNA macromolecules.— Kiev, 1988.—19 p.— (Preprint / Acad. Sci. of Ukr. S. S. R., Inst. Theor. Phys; N 88-177E).

Ин-т теор. физики АН УССР, Киев
 Физ.-техн. ин-т низких температур АН УССР, Харьков
 Врем. науч. коллектив «Отклик», Киев

Получено 01.06.89

УДК 517.150.6

Н. Н. Береговская, А. В. Савич

ГОМОЛОГИЧНОСТЬ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ СУПЕРОКСИД-ДИСМУТАЗ И БЕЛКОВ, КОДИРУЕМЫХ НА МИТОХОНДРИАЛЬНОМ ГЕНОМЕ

Оценена степень гомологичности между аминокислотными последовательностями супероксид-дисмутаз (СОД), субъединиц NADH-дегидрогеназ, кодируемых на митохондриальном геноме (НД), и бактериальной NADH-дегидрогеназы. При сопоставлении в противоположных направлениях карбоксильные участки NADH-дегидрогеназ наиболее гомологичны митохондриальной Мп-СОД. Некоторые выводы подкрепляются сопоставлением нуклеотидных последовательностей.

СОД различаются металлом, входящим в их активные центры [1]. Бактериальные СОД состоят из двух одинаковых субъединиц, имеющих около 200 аминокислотных остатков, между которыми расположен атом металла — Fe либо Cu. У эукариот имеется митохондриальная Мп-СОД, состоящая из четырех субъединиц, и цитоплазматическая Cu/Zn-СОД, содержащая одну белковую цепь из примерно 150 остатков, с присоединенными к ней атомами Cu и Zn. Cu/Zn-СОД обнаружена и у *Photobacterium leignathi* [2]. Предполагают, что она приобретена от хозяйки — паразитирующей бактерии — серебробрюшковой рыбы.

входят в белки NADH-дегидрогеназного комплекса. Создается впечатление, что для кодирования других белков на митохондриальном геноме места не остается. Однако информация может считываться в обратном порядке — от карбоксильного конца к аминному. Исходя из этого мы предположили, что на митохондриальном геноме может кодироваться и митохондриальная Мп-СОД для того, чтобы могла существовать автономная энергетическая система, в которой СОД нейтрализует цитотоксические радикалы O_2^- , генерируемые при транспорте электронов по дыхательной цепи.

На рис. 1 сопоставлены аминокислотные последовательности СОД и карбоксильных участков NADH-дегидрогеназ — митохондриальных

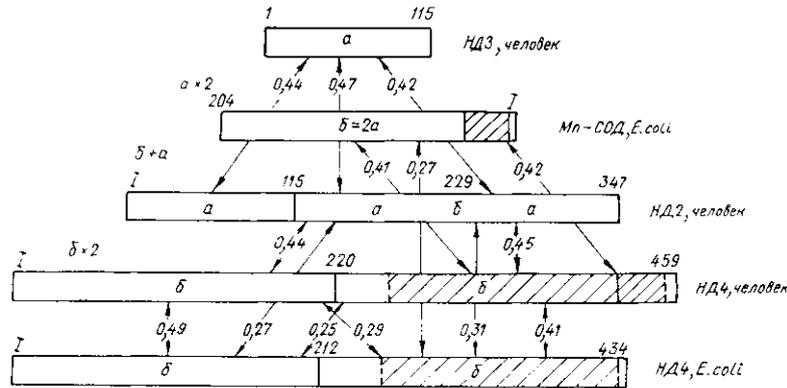


Рис. 2. Эволюционная схема генов, кодирующих аминокислотные последовательности компонент NADH-дегидрогеназного комплекса митохондрий НД3, НД2 и НД4, бактериальной NADH-дегидрогеназы и бактериальной Мп-СОД. Редко- и густозаштрихованные прямоугольники — участки, гомологичные бактериальной Мп-СОД и начальному фрагменту митохондриальной Мп-СОД соответственно. Цифры отвечают значениям относительного совпадения аминокислотных остатков C^{ak} между наиболее сходными участками размером около 115 (*a*) и около 230 остатков (*b*). Сопоставление последовательностей для участков *a* в тексте не приводится

Fig. 2. Alignment of amino acid and nucleotide sequences of components of NADH-dehydrogenase complex, coded for on mitochondrial human genome ND2 and ND4 and bacterial NADH-dehydrogenase of *E. coli*

(НД4) и принадлежащих *Escherichia coli* [17]. В качестве показателей гомологичности использованы относительные числа совпадений аминокислотных (C^{ak}) и нуклеотидных ($C^{нк}$) остатков, вычисляемые по формулам, дополняющим предложенную в работе [16], где двумя способами учитываются делеции:

$$C_1^{ak} = \frac{A^{ak} + A_1^{ak}}{K}; \quad C_1^{нк} = \frac{A^{нк}}{3K}; \quad (1)$$

$$C_2^{ak} = \frac{A^{ak} + A_1^{ak}}{K_{II}}; \quad C_1^{нк} = \frac{A^{нк}}{3K_{II}}; \quad (2)$$

$$C_3^{ak} = \frac{A^{ak} + A_1^{ak} + 0,17 \cdot B^{ak}}{K_{II}}; \quad C_3^{нк} = \frac{A^{нк} + 0,25 \cdot 3 \cdot B^{нк}}{3K_{II}}. \quad (3)$$

Здесь A^{ak} , $A^{нк}$ — число совпадений аминокислотных и нуклеотидных остатков соответственно; A_1^{ak} — число совпадений разных аминокислотных остатков, но принадлежащих к одной и той же группе из следующих семи: 1) Gly (G), Ala (A), Pro (P); 2) Val (V), Leu (L) Ile (I); 3) Ser (S), Thr (T); 4) Cys (C), Met (M); 5) Lys (K), Arg (R), His (H); 6) Asp (D), Glu (E), Asn (N), Gln (Q); 7) Phe (F), Tyr (Y), Trp (W); B^{ak} — суммарное число аминокислотных делеций в двух сравниваемых последовательностях; K — число сравниваемых аминокислотных остатков без делеций; K_{II} — полное число сравниваемых


```

410      420      430      440      450      460
1.  N S - - S T T T L L L - - L S R T W N K L T
AACTCC---AGCACCAGCAGCCTACTA-----CTATCTCCACCTGAAACAAGCTAACA
2.  F T A - - T - E L I M - - - - - F Y - I -
TTCACAGCC---ACA---GAACATAATCATA-----TTTTAT---ATC---
3.  N Y E R T H S R I M I L S G G L G Q T L L
AACTACGAACBCACTCAGTCGCATATAATCCTCTCTCAAGGACTTCAAACCTACTCTC
4.  L - G S T S N - - - - - D - F N - - -
CTG---GGTACCACCTCTAAC-----GAT---TTCAAT---
5.  - A G A A H Q - - M A - T C A M N N I L
---GCTCAGGCTGCACACCAG-----ATG-GCC---ACTTGCSCAATGAACAACATTCG
470      480      490      500      510      520
1.  W L - - T P L I P S T L L S L G G L P P
TGACTA-----ACACCCTTAATCCATCCACCCTCCTCCTCAGGAGCCCTGCCGCCG
2.  F - F E T T L I P - T L A I I T R W G N
TTC---TTCGAAACCACTTATCCCC---ACCTTGGCTATCAICACCCGATGAGGCAAC
3.  P L M A F W W L L A S L A N L - A L P P
CCACTAATAGCTTTTTGATGACTACTTGCAGCCCTCCCTAACCTC---GCCTTACCCCCC
4.  - - - T P Q V K E - N - C I - - F L D
-----ACGCCAGGTGCAAGAG---AAC---TCCAT---TTCCCTCGAT
5.  A Q M N G K P L K N Y G Y K D - H - G S
GCCACATGAACGGTAAGCCCTGAAAAATATCAGTATAAAGAT---CAT---CGTTCC
530      540      550      560      570      580
1.  L T G F L P K W A I I - F E E F T K N N S
CTAACCGCTTTTTGCCCAATGCCCAATTATC---GAAGAATTCACAAAAACAATAGC
2.  G P E R L - N A G T Y F L F Y T L V G S
CAGCCAGAACCCCTG---AACGCAGGCACACTCTCTTCTACACCCTAGTAGGCTCC
3.  T I N L L G E L - S V - L V T T F S W S
ACTATTAACTACTGGGAGAACTC---TCTGTG---CTAGTAACCACTTCTCCTGATCA
4.  N P - H - - G - A R R F H G E M L - - -
AACCCG---CAC---CAC---GCCCTCGCTCCACCAGGAGATGCTG---
5.  L V - S L S N F S T V G S L - M G N L T
CTGGTA---TCGCTGCGAACTTCTCCACCCTCGGTAGCCTG---ATGGTAACTGAGC
590      600      610      620      630      640
1.  - L I I P T I M A T I T L L N - L Y F Y
---CTCATCTCCCCACCATCATAGCCACCATCACCCTCCTTAAC---CTCTACTCTAC
2.  - L P L L I - A L I Y T H - N T L G S L
---CTTCCCTACTCATC---GCCTAATTTACTACTCAC---AACACCCTAGGCTCATA
3.  N I T L L L T G L N M - L V T A L Y S L
AATATCACTCTCTACTTACAGGACTCAACATA---CTAGTCACAGCCCTATCTCCCTC
4.  N L F L K Y S A - N L G A - N - - G K V
AATTTCTTCCAAATCTCCGCC---AACCTGGCCGC---AAT---GGCAAACTG
5.  - - - R Q S M M I E - G R - - - I A R -
-----CCCGCTCAATGATGATGAA---GGACGA-----ATTGGCCGC---
650      660      670      680      690      700
1.  L R L I Y S T S I T L L P M - - S N N V
CTACGCCTAATCTACTCCACCTCAATCACACTACTCCCCATA-----AACAACTA
2.  - - N I - L L - L T L T A - - - G E -
---AACATT---CTACTA---CTCACTCTCACTGCC-----CAAGAA---
3.  - - Y M F T T T Q W G S L T H H I N N -
---TACATATTTACCACAACAATGGGCTCACTCACCCACCACATTAAACAAC---
4.  - - N I A I V G G Q A T G - - - V E - -
---AACATTCCBATTGTCGGCCGGCCGGCAGCGCT-----GTAGAA---
5.  - - F V Y I - S L Y R - - M H - - G I A
---TTGTATATATC---TCGCTATACCGA---ATGCAT---CAGATTCCG
710      720      730      740      750
1.  K M K W G F E H T K P T P F L P T L I A
AAAATAAAATGACAATTTGAACATACAAAACCCACCCCTTCTCCACACTCATCCCC
2.  - L S N S W - A N N - L M W L A Y T M A
---CTATCAAACTCCTGA---GCCAATAAC---TTAATATGACTAGCTTACACAATAGCT
3.  - M K P S F T R E N T L M F M H - L S P
---ATAAAACCTCATTACACGAGAAAACCCCTCATATTCATGCAC---CTATCCCC
4.  - L - - S - - A E - - L H - N A - V K Q
---CTC---TCC---GCTGAA---TTGCAC---AACCGG---GTCAGGCA
5.  - L H G Y F - K T - G L M - M - - L V G
---CTGCATGCTACTTT---AAAACC---GGATTAATG---ATG---CTGGTGGGG
770      780      790      800      810      820
1.  L T T L L L P I S - P F M L M I L
CTTACCAGCTACTCCTACTCTCCTC---CCTTTTATACTAATAATCTTA
2.  - F M V K M P L Y - G L H L W - L P K A
---TTTATAGTAAAGATACCTTTTAC---GGACTCCACTTATGA---CTCCCTAAAGCC
3.  I - - L L L S L N - P D I I T G F S S
ATT-----CTCCTCCTATCCCTCAAC---CCGACATCATTACGGGCTTTCTCT
4.  - - - L H S Y G Y K G L T N E A L N V T
---CTGCACAGCTACGGTTACAAGGCTGACCAACGAAGCCCTGAAAGCTAACG
5.  - - S I N R V I - R P - R L K - L - H
-----AGTATTAACCCGCTTATC---CGTCCG---CGTTTGAAC---TTC---CAT

```

NADH-дегидрогеназного комплекса, кодируемых на митохондриальном геноме цело-

ND3, ND2, ND4, bacterial NADH-dehydrogenase and Mn-superoxide dismutase

тохондриальном геноме. Отметим, что сходство аминокислотных последовательностей бактериальной NADH-дегидрогеназы с митохондриальными компонентами NADH-дегидрогеназы ND4 примерно такое же, как сходство последних с митохондриальными Mn-SOD.

Согласно данным работы [16], белки, кодируемые на НРУ митохондриального генома, можно объединить в эволюционную схему, связывающую переход от низкомолекулярных белков к высокомолекулярным путем дупликации генов. Несколько уточненный элемент этой схемы представлен на рис. 2 для трех компонентов NADH-дегидрогеназного комплекса. На схеме даны значения $S_{ак}$ для наиболее близких

Таблица 1

Средние показатели гомологичности $C_{1^{ак}}$ аминокислотных последовательностей СОД и NADH-дегидрогеназMean values of $C_{1^{ак}}$ for amino acid sequences of superoxide dismutases and NADH-dehydrogenases

Принадлежность	СОД				NADH
	Fe	Мп (бактери- альные)	Мп (мито- хондри- альные)	Cu/Zn	
Fe-СОД					
1. <i>Chromatium vinosum</i>	0,72	0,51	0,66	0,24	0,32
2. <i>Chloribium thiosulphatoph.</i>	0,73	0,56	0,54	0,22	0,24
3. <i>Pseudomonas ovalis</i>	0,73	0,62	0,58	0,27	0,32
4. <i>E. coli</i>	0,79	0,56	0,64	0,28	0,27
5. <i>P. leignathi</i>	0,78	0,63	0,54	0,24	0,34
6. <i>Desulphovibrio desulphuric.</i>	0,63	0,65	0,48	0,26	0,34
7. <i>Plectonoma borianum</i>	0,69	0,58	0,60	0,26	0,31
8. <i>Spirulina platensis</i>	0,61	0,58	0,47	0,32	0,26
Среднее	0,71	0,60	0,57	0,26	0,30
Мп-СОД (бактериальные)					
9. <i>Rhodospseudomonas spheroides</i>	0,54	0,63	0,41	0,28	0,28
10. <i>Thermus aquaticus</i>	0,61	0,70	0,59	0,28	0,32
11. <i>E. coli</i>	0,64	0,72	0,47	0,34	0,31
12. <i>Bacillus stearothermophilus</i>	0,60	0,73	0,47	0,31	0,32
Среднее	0,60	0,70	0,52	0,31	0,31
Мп-СОД (митохондриальные)					
13. Человек	0,58	0,55	0,92	0,39	0,33
14. Курица	0,61	0,52	0,92	0,35	0,34
15. Дрожжи	0,53	0,47	0,85	0,38	0,38
Среднее	0,57	0,52	0,90	0,37	0,35
Cu/Zn-СОД					
16. Человек	0,28	0,30*	0,36	0,74*	0,27*
17. Бык	0,26	0,29*	0,38	0,75*	0,30*
18. Пшеница	0,26	0,27*	0,39	0,70*	0,29*
19. Дрожжи	0,31	0,37*	0,45	0,74*	0,25*
20. <i>P. leignathi</i>	0,21	0,25*	0,30	0,53*	0,22*
Среднее	0,26	0,28*	0,37	0,69*	0,27*
NADH-дегидрогеназы					
21. Человек	0,30	0,39*	0,43	0,29*	0,65*
22. Мышь	0,28	0,34*	0,34	0,22*	0,63*
23. <i>Xenopus laevis</i>	0,35	0,34*	0,31	0,26*	0,59*
24. Дрозofiла	0,30	0,27*	0,30	0,22*	0,56*
25. <i>E. coli</i>	0,26	0,29*	0,37	0,24*	0,41*
Среднее	0,30	0,33*	0,35	0,27*	0,57*

Примечание. Номера по порядку соответствуют представленным на рис. 1. * Значения приведены для полных последовательностей СОД, остальные — для начальных (аминных участков).

Таблица 2

Показатели гомологичности аминокислотных и нуклеотидных последовательностей митохондриальных NADH-дегидрогеназ и бактериальной

Different kinds of relative homology values C_1, C_2, C_3 for amino acid and nucleotide sequences of mitochondrial bacterial NADH-dehydrogenases

Сравниваемые последовательности		$C_1^{ак}$	$C_2^{ак}$	$C_3^{ак}$	№**	$C_1^{нк}$	$C_2^{нк}$	$C_3^{нк}$	№**
НД4 1—220	НД 1—212*	0,49	0,34	0,39	1	0,37	0,26	0,34	4
НД4 221—459	НД 213—434*	0,41	0,32	0,36	4	0,35	0,27	0,33	5
НД4 1—459	НД 1—434*	0,45	0,33	0,38	—	0,36	0,27	0,34	—
НД2 115—347	НД4 221—459	0,45	0,36	0,39	2	0,45	0,36	0,41	1
НД2 115—347	НД4 1—220	0,44	0,32	0,37	3	0,38	0,28	0,34	3
НД4 1—220	НД4 221—459	0,41	0,31	0,35	5	0,41	0,31	0,37	2
НД2 115—347	НД 213—434*	0,31	0,22	0,27	6	0,30	0,22	0,29	6
НД4 1—220	НД 213—434*	0,29	0,21	0,26	7	0,29	0,21	0,28	7
НД 1—213*	НД 213—434*	0,29	0,20	0,25	8	0,25	0,17	0,25	10
НД2 115—347	НД 1—212*	0,27	0,19	0,24	9	0,28	0,19	0,27	9
НД4 221—459	НД 1—212*	0,25	0,18	0,22	10	0,29	0,20	0,28	8

* Бактериальная NADH-дегидрогеназа; ** порядковый номер, начиная от больших значений к меньшим (для участков размером порядка 200 аминокислотных остатков).

по структуре участков. Данные, полученные сопоставлением аминокислотных последовательностей, можно подкрепить, сравнивая нуклеотидные последовательности. Такое сравнение дано на рис. 3 для митохондриальных НД2, НД4 и бактериальной NADH-дегидрогеназы. Для этих трех белков рассчитаны относительные числа аминокислотных и нуклеотидных совпадений в трех вариантах по формулам (1)—(3). Результаты представлены в табл. 2, откуда видно, что сопоставление аминокислотных и нуклеотидных последовательностей дает примерно одинаковый результат. Из двух вариантов учета делеций, по-видимому, более корректен вычисляемый по формуле (3), которая предполагает, что у изъятых участков вероятность совпадений принята равной среднему значению случайных совпадений. Таким образом, сравнение нуклеотидных последовательностей подкрепляет эволюционную схему для митохондриальных элементов NADH-дегидрогеназного комплекса НД2, НД4 и бактериальной NADH-дегидрогеназы.

HOMOLOGOUS CHARACTER OF AMINO ACID SEQUENCES OF SUPEROXIDE DISMUTASES AND PROTEINS CODED FOR BY MITOCHONDRIAL GENOME

N. N. Beregovskaya, A. V. Savich

Institute of Biophysics, Ministry of Public Health of the USSR, Moscow

Summary

The degrees of homologous character between amino acid sequences of 4 types of superoxide dismutases (Cu/Zn-SOD, Fe-SOD, Mn-SOD bacterial, Mn-SOD mitochondrial) and fragments of the carboxyl ends of NADH dehydrogenases coded for by mitochondrial genome (ND4) were estimated. The alignment of amino acid sequences of SOD and NADH-dehydrogenase was performed in opposite directions. The highest degree of homology was found between ND4 and mitochondrial Mn-SOD. Degrees of homology between amino acid and nucleotide sequences for subunits of ND complex coded for by mitochondrial genome and bacterial ND were calculated. The evolutionary scheme including mitochondrial and bacterial ND- and bacterial Mn-SOD is given.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Фридович И. Радикалы кислорода, пероксид водорода и токсичность кислорода // Свободные радикалы в биологии / Под ред. Н. М. Эмануэля.— М.: Мир, 1979.— Т. 1.— С. 272—314.
2. *The phylogenetic position of the Cu/Zn-SOD of P. leignathi* / I. Flohe, W. A. Günzler, S.-M. A. Kim et al. // Oxygen radicals in chemistry and biology / Eds W. Bors et al.— Berlin; New York: Gruyter, 1984.— P. 793—799.
3. *Some sulphhydryl properties and primary structure of human erythrocyte superoxide dismutase* / I. R. Jabach, D. L. Farb, D. A. Kerschensteiner, H. V. Deutch // Biochemistry.— 1980.— 19, N 11.— P. 2310—2316.
4. *Brock Ch. R., Walker J. E. Superoxide dismutase from Bacillus stearothermophilus. Complete amino acid sequence of a manganese enzyme* // Ibid.— N 13.— P. 2873—2882.
5. *Steinman H. M. The amino acid sequence of manganese superoxide dismutase from Escherichia coli B.* // J. Biol. Chem.— 1978.— 253, N 24.— P. 8708—8720.
6. *Rao K. K., Cammak R. The evolution of ferredoxin and superoxide dismutase in microorganisms* // Molecular and cellular aspects of microbial evolution / Eds N. J. Carille et al.— Cambridge: Cambridge univ. press, 1981.— P. 175—219.
7. *Structural comparisons of superoxide dismutases* / J. I. Harris, A. D. Auffret, F. D. Northrop, J. E. Walker // Eur. J. Biol. Chem.— 1980.— 119, N 1.— P. 297—303.
8. *Steinman N. M., Hill R. L. Sequence homologies among bacterial and mitochondrial superoxide dismutases* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1973.— 70, N 2.— P. 3725—3729.
9. *Feaster W. W., Kwock L. W., Epstein C. J. Dosage effects for superoxide dismutase in nucleated cells aneuploid for chromosome 21* // Amer. J. Human Genet.— 1977.— 29, N 6.— P. 563—570.
10. *Sequence and organization of the human mitochondrial genome* / S. Anderson, A. T. Bankier, B. B. Barrell et al. // Nature.— 1981.— 290, N 5806.— P. 457—465.
11. *Sequence and organization of mouse mitochondrial DNA* / M. J. Bibb, R. A. van Etten, C. T. Wright et al. // Cell.— 1981.— 26, N 2.— P. 167—180.
12. *Clary D. O., Wolstenbalme D. R. The mitochondrial DNA molecule of Drosophila yakuba: nucleotide sequence, gene organization and genetic code* // J. Mol. Evol.— 1985.— 22, N 2.— P. 252—271.

13. *The complete nucleotide sequence of the Xenopus laevis mitochondrial DNA* / B. A. Rao, D.-P. Ma, R. K. Wilson, F. Wong // J. Biol. Chem.—1985.—260, N 24.— P. 9759—9774.
14. *URF6, last unidentified reading frame of human mtDNA, codes NADH-dehydrogenase subunits* / A. Chomin, M. W. J. Cloeter, M. Ragen et al. // Science.—1986.—234, N 4776.— P. 614—618.
15. *Six unidentified reading frames of human mitochondrial DNA encode components of the respiratory-chain NADH-dehydrogenase* / A. Chomin, D. I. Ragan, A. Matsuno-Yagi et al. // Nature.—1985.—314, N 6012.— P. 592—597.
16. *Береговская Н. Н., Савиц А. В.* Возможное кодирование железо-серных белков в митохондриальном геноме млекопитающих // Биополимеры и клетка.—1988.—4, № 5.— С. 238—245.
17. *Nucleotide sequence coding for the respiratory NADH dehydrogenase of E. coli UGG initiation codon* / I. E. Yong, B. L. Roger, H. D. Campbell et al. // Eur. J. Biol. Chem.—1981.—116, N 1.— P. 165—171.

Ин-т химии поверхности АН УССР, Киев
Ин-т биофизики МЗ СССР, Москва

Получено 24.04.89

УДК 577.113.4

Ю. В. Пацковский, Т. П. Волощук, А. И. Потопальский

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАПРАВЛЕНИЙ АЛКИЛИРОВАНИЯ ДНК ПРОИЗВОДНЫМИ ЭТИЛЕНИМИНА И ВЫДЕЛЕНИЕ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОСНОВАНИЙ

В работе исследовали направления алкилирования пуриновых оснований в свободном виде и в составе ДНК этиленимином (ЭИ), моноазиридиндиэтилфосфатом и тиотэфом. Методом обращенно-фазовой ВЭЖХ проведено разделение продуктов алкилирования. При сопоставлении спектров поглощения выделенных алкилированных оснований с изученными ранее установлено, что алкилирование аденина происходит в основном по N1, N3, N9, а гуанина — по N1, N7 и N9 положениям гетероцикла. Из кислотных гидролизатов алкилированной разными агентами ДНК выделены 1- и 3-алкиладенин, 6-алкиламинопурин, 1- и 7-алкилгуанин. Обсуждается зависимость физико-химических свойств такой ДНК от направлений алкилирования пуриновых оснований.

Введение. ЭИ (азиридин) и его производные относятся к классу электрофильных алкилирующих соединений и обладают мутагенным и канцерогенным действием [1, 2]. Полифункциональные алкилирующие агенты, такие как тиотэф, бензотэф и некоторые другие [3, 4], имеют выраженную противоопухолевую активность и применяются в клинике. Предполагается, что биологический эффект этих соединений обусловлен их взаимодействием с клеточной ДНК. Однако прямых доказательств алкилирования различных компонентов в составе ДНК к настоящему времени получено недостаточно. При этом показана возможность алкилирования тиотэфом метилированных оснований в свободном виде [5]. Установлено, что алкилирование ЭИ и тиотэфом мононуклеотидов происходит в основном по остаткам фосфорной кислоты, а из оснований в составе нуклеотидов алкилируется лишь гуанин [6]. Имеется также ряд данных об изменении физико-химических свойств ДНК в результате алкилирования [7—9]. Мы поставили задачу изучить основные направления алкилирования нуклеиновых кислот ЭИ и его производными и таким образом выяснить, какие нуклеофильные центры в ДНК ответственны за происходящие изменения. Интерес к этому обусловлен также и обнаруженным ранее противоопухолевым действием ДНК, алкилированной тиотэфом [10]. В настоящей работе представлены данные, касающиеся изучения направлений алкилирования пуриновых оснований в свободном виде и в составе ДНК.

Материалы и методы. Алкилирующие агенты N, N', N''-триэтиленимид тиофосфорной кислоты (тиотэф, I) и моноэтиленимид диэтилового эфира фосфорной кислоты