

В. И. БРУСКОВ, В. И. ПОЛТЕВ

**УЗНАВАНИЕ ФЕРМЕНТАМИ КОМПЛЕМЕНТАРНЫХ ПАР
АЗОТИСТЫХ ОСНОВАНИЙ И УСИЛЕНИЕ СПЕЦИФИЧНОСТИ
ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В ПРОЦЕССАХ МАТРИЧНОГО СИНТЕЗА**

(Представлено академиком А. С. Спириным 24 VII 1974)

Процессы репликации и транскрипции происходят *in vivo* с высокой степенью точности. Частоты спонтанных мутаций имеют величины порядка 10^{-8} — 10^{-11} на репликацию пары оснований ⁽¹⁾. Частота ошибок при матричном синтезе ДНК *in vitro* ДНК-полимеразами *E. coli* ⁽²⁾ и бактериофага Т4 ⁽³⁾ не превышает 10^{-5} , а при матричном синтезе РНК РНК-полимеразой не превышает 10^{-4} ⁽⁴⁾. В настоящее время все большее число данных свидетельствует о том, что в определении точности матричных синтезов в процессах репликации, репарации и, по-видимому, транскрипции существенная роль принадлежит матричным ферментам. Высокая степень точности процессов репликации и транскрипции, наблюдаемая как *in vivo*, так и *in vitro* не может быть, по всей вероятности, обеспечена только за счет взаимоузнавания азотистых оснований, поскольку степень точности процессов ферментативного матричного синтеза существенно выше точности неферментативных матричных синтезов полинуклеотидов ⁽⁵⁾ и специфичности взаимодействия азотистых оснований в системах полимер — мономер ⁽⁶⁾. Только за счет различной точности действия ферментов могут быть объяснены различия на несколько порядков в частоте спонтанных мутаций у разных организмов и тот факт, что частота мутаций бактериофага λ приблизительно в 100 раз ниже, когда он реплицируется в виде профага вместе с бактериальной хромосомой, по сравнению со свободным фагом ⁽¹⁾. Наконец, исследования последних лет непосредственно свидетельствуют о влиянии матричных ферментов на точность копирования генетической информации. Так, показано увеличение частоты спонтанных мутаций, вызываемое мутациями в структурном гене ДНК-полимеразы фага Т4 ^(8, 9). Обнаружены также антимутаторные мутации этого гена ⁽⁹⁾. Различная точность включения нуклеотидов в ДНК с помощью ДНК-полимераз дикого и мутаторного штаммов фага Т4 показана в экспериментах *in vitro* ^(3, 9). Кроме того, количество ошибок при матричном синтезе ДНК ДНК-полимеразой лейкемических клеток человека ⁽¹⁰⁾ и обратной транскриптазой онкогенных вирусов ⁽¹¹⁾ существенно выше, чем при синтезе с помощью нормальной ДНК-полимеразы.

Приведенные данные показывают, что в процессах матричного синтеза происходит ферментативное усиление специфичности взаимодействий нуклеотидов и за счет этого увеличение точности копирования генетической информации. Такое усиление специфичности может быть обеспечено в результате взаимодействия фермента со структурными инвариантами комплементарных пар нуклеотидов в молекулах нуклеиновых кислот. Один из возможных способов увеличения точности копирования генетической информации состоит в узнавании ферментом положения и конформации сахарофосфатной части молекулы нуклеотида ⁽¹²⁾. Этот механизм может обеспечивать комплементарность нуклеотидов, что является обобщением принципа комплементарности азотистых оснований. Однако, усиление специфичности путем взаимодействия по сахаро-фосфатной части нуклеотида,

на наш взгляд, может оказаться недостаточным, поскольку сильное взаимодействие по сахаро-фосфатной части нуклеотида само могло бы служить источником ошибок в процессах матричного синтеза ввиду идентичности сахаро-фосфатного остова всех нуклеотидов. Дополнительным способом увеличения точности матричного синтеза является узнавание ферментом канонических пар азотистых оснований. Роль матричного фер-

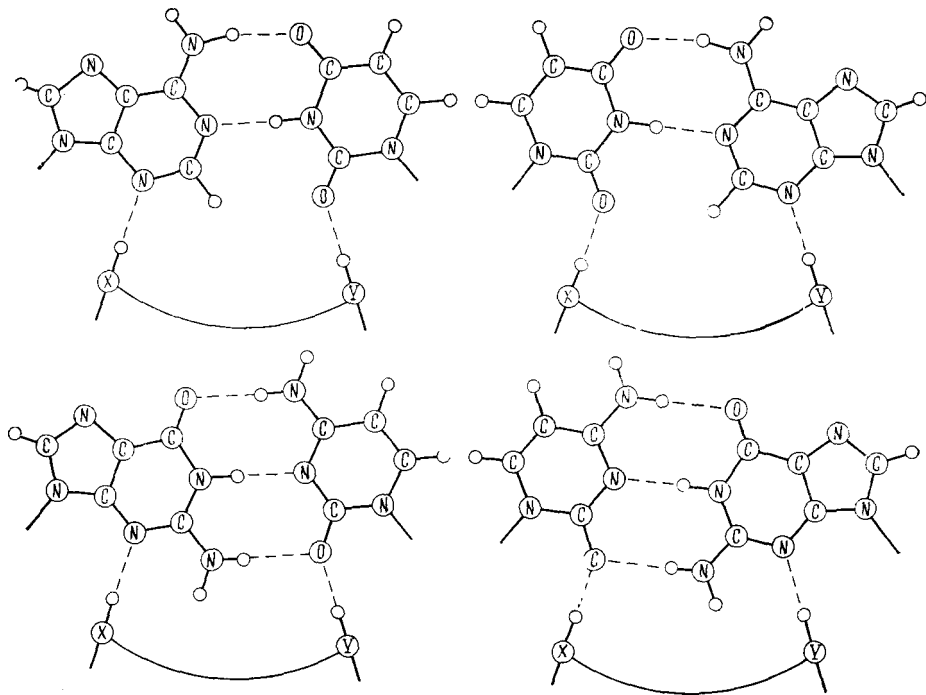


Рис. 1

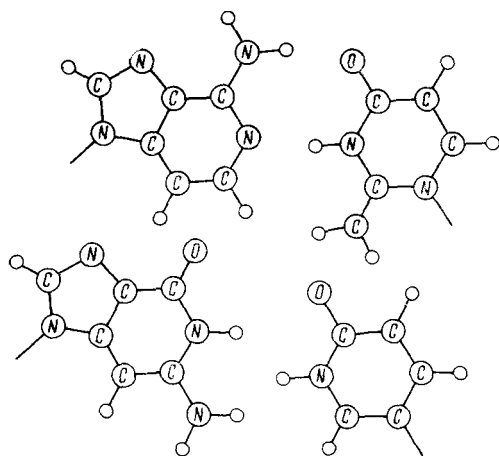


Рис. 2

Рис. 1. Схемы узнавания комплементарных пар азотистых оснований за счет образования матричными ферментами комплементарной поверхности с водородными связями по N-3 пуринов и O-2 пиримидинов. X и Y — доноры протонов в полипептидной цепи фермента

Рис. 2. Аналоги азотистых оснований с нарушенным узнаванием по N-3 пуринов и O-2 пиримидинов, сохраняющие комплементарное спаривание оснований

мента в этом случае может заключаться в усилении специфичности взаимодействия азотистых оснований за счет дополнительных взаимодействий между доступными атомными группировками комплементарных пар и ферментом, т. е. в результате образования связей в случае комплементарных пар А-Т (У) и Г-Ц и отсутствия связей в случае других пар. Таким образом, кроме принципа комплементарности нуклеотидов, мы постулируем

дополнительный принцип белково-нуклеинового узнавания комплементарных пар в процессах матричных синтезов. Согласно этой гипотезе, матричный фермент в процессах синтеза играет роль дополнительной матрицы, препятствующей образованию неправильных пар.

Одним из возможных конкретных механизмов такого увеличения точности копирования генетической информации в процессах матричного синтеза является узнавание атомов N-3-пурина и O-2-пиримидина и образование водородных связей этих атомов с ферментом. Положение этих двух атомов инвариантно относительно сахаро-фосфатного остова, т. е. не зависит от типа комплементарной пары А-Т(У), Т(У)-А, Г-Ц, Ц-Г. Наличие на ферменте специфического узнающего участка полипептидной цепи, имеющего комплементарную поверхность и образующего водородные связи по этим атомам комплементарных пар в плоскости оснований (рис. 1), может обеспечить дополнительные преимущества образованию «правильных» пар оснований и препятствовать образованию «неправильных» пар. Не исключено, что образование этих связей может быть необходимым условием полимеразной реакции.

Анализ с помощью молекулярных моделей Курто показывает, что таким участком фермента может быть, например, дипептидный участок, содержащий следующие атомные группировки: 1) ОН-группы двух соседних остатков серина и (или) треонина, 2) ОН-группу серила и NH-группу предшествующего остатка полипептидной цепи, 3) NH₂-группу глутамила и NH-группу следующего остатка полипептидной цепи.

Другим принципиально возможным способом усиления специфичности комплементарных пар азотистых оснований в процессах матричного синтеза является узнавание ферментом amino- и кетогрупп в шестом положении пуринов и пиримидинов, расположенных в широком («несахарном») желобе двуспиральных нуклеиновых кислот. Отсутствие инвариантности в положении этих групп относительно сахаро-фосфатного остова для 4 типов комплементарных пар оснований делает такое усиление менее вероятным. Узнавание ферментом атомов N-3 пурина и O-2 пиримидина не препятствует образованию неправильных пар с участием редких таутомерных форм азотистых оснований. Узнавание ферментом групп (NH₂)-6 и O-6 в широком желобе препятствовало бы мутациям и такого типа.

Как следствие рассмотренной выше гипотезы, механизм действия ген-мутаторов в тех случаях, когда он связан с нарушением точности работы матричных ферментов, будет состоять в изменении узнающего центра фермента, обеспечивающего усиление специфичности взаимодействий как по сахаро-фосфатному остову, так и по комплементарным парам. Прямая экспериментальная проверка предлагаемого нами механизма узнавания комплементарных пар по атомам N-3 пурина и O-2 пиримидина возможна при исследовании включения аналогов оснований, не образующих водородные связи по этим атомам, но сохраняющих комплементарное спаривание. Такими аналогами аденина, гуанина и тимина (урацила) могут быть показанные на рис. 2 производные. При использовании этих аналогов должно наблюдаться существенно большее количество ошибок в процессах матричного синтеза *in vitro*.

Усиление специфичности взаимодействия азотистых оснований с помощью ферментов в процессах матричного синтеза, в принципе, может вносить существенный вклад в точность репликации, репарации и транскрипции, а также участвовать в трансляции при взаимодействии тРНК с мРНК. Экспериментальные исследования должны показать как верность этой гипотезы, так и степень ее возможной универсальности в перечисленных выше процессах.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ *J. W. Drake*, *Nature*, v. 221, 5186, 1132 (1969). ² *T. Trautner, M. Swartz, A. Kornberg*, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, v. 48, 3, 449 (1962). ³ *Z. W. Hall, I. R. Lehman*, *J. Mol. Biol.*, v. 36, 3, 321 (1968). ⁴ *H. Bujard, C. Heidelberger*, *Biochemistry*, v. 5, 10, 3339 (1966). ⁵ *J. Sulston, R. Lohrmann et al.*, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, v. 60, 2, 409 (1968). ⁶ *P. M. Pitha, W. M. Huang, P. O. P. Ts'o*, *ibid.*, v. 61, 1, 332 (1968). ⁷ *J. H. Speier*, *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, v. 21, 1, 6 (1965). ⁸ *J. W. Drake, E. F. Allen et al.*, *Nature*, v. 221, 5186, 1126 (1969). ⁹ *M. S. Hershfield, N. G. Nossal*, *Gen. Suppl.*, v. 73, 131 (1973). ¹⁰ *C. F. Springgate, L. A. Loeb*, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, v. 70, 1, 245 (1973). ¹¹ *C. F. Springgate, N. Battula, L. A. Loeb*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 52, 2, 401 (1973). ¹² *E. B. Freese, E. Freese*, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, v. 57, 3, 650 (1967).