

Вплив метилювання та взаємодії з карбоксильною групою амінокислот на УФ спектри пуринових нуклеотидних основ та нуклеозидів у диметилсульфоксиді. 2. Гуанін

А. В. Степанюгін, І. М. Коломієць, А. Л. Потягайло, С. П. Самійленко

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна

Вивчено УФ спектри поглинання у зневодненому ДМСО похідних гуаніну $m^9\text{Gua}$, $m^{2,9}\text{Gua}$, $m^1\text{Gua}$, $m^{1,7}\text{Gua}$, G , dG , m^1G , m^2G , m^7G , а також його аналога $iso\text{Gua}$. Досліджено та інтерпретовано зміну УФ поглинання похідних Gua в присутності похідних амінокислот, що містять нейтральну карбоксильну групу $ac\text{-Asp}$, $ac\text{-Glu}$, $ac\text{-Gly}$, $ac\text{-Asp-OMe}$ та $f\text{-GlyONa}$ і NaAc з депротонованою карбоксильною групою. Показано, що $m^1\text{Gua}$ та $m^7\text{Gua}$ у зневодненому ДМСО існують як таутомери N^9H . Встановлено, що переважна більшість досліджених похідних Gua взаємодіє лише з депротонованою карбоксильною групою, за винятком m^7G , $iso\text{Gua}$ та $m^3\text{Gua}$, здатних утворювати комплекси також із нейтральною карбоксильною групою. Розраховано енергетичні характеристики прототропних таутомерів Gua та їхніх комплексів з карбоксилат-іоном напівемпіричним методом MNDO/H у вакуумному наближенні.

Вступ. Перша робота із започаткованої серії вивчення УФ спектрів поглинання похідних нуклеотидних основ та їхніх комплексів з карбоксильною групою амінокислот у зневодненому диметилсульфоксиді (ДМСО) була присвячена аденінові [1]. Предметом даної публікації є дослідження за ідентичних експериментальних умов похідних гуанінового ряду.

Гуанін є структурним елементом нуклеїнових кислот та зустрічається у вільному стані в багатьох рослинах та органах тварин [2]. Значна кількість його міститься у лусці і шкірі риб, плазунів та амфібій. Мінливий блиск їхнього покриття зумовлений присутністю викристалізованого гуаніну. Захворювання свиней, викликане порушенням обміну, подібно до подагри у людей, супроводжується накопиченням кристалічного гуаніну в кістках [3].

Завдяки гетерогенності електронної будови, тобто поєднанню протоніоакцепторних та протоніо-

донних властивостей, з-поміж інших нуклеотидних основ гуанін вирізняється надзвичайно сильною схильністю до самоасоціації як на рівні основи, так і гомополінуклеотидів. Саме дуже низька розчинність стала причиною того, що гуанін та деякі його похідні значно менше вивчені, ніж інші нуклеотидні основи. Для отримання навіть дуже розбавлених розчинів незаміщеної основи необхідно вдаватися до неабияких експериментальних заходів [4, 5]. Наприклад, у роботі [5] для дейтерування Gua його розчиняли у киплячій воді та водних розчинах ND_4OD . Щоб обійти цю перепону, незаміщений гуанін вивчали ізольованим у низькотемпературних матрицях [6] або у сухій плівці чи плівці кристалогідрату [7, 8]. За допомогою рентгеноструктурного аналізу [7] показано, що Gua кристалізується лише із залученням молекул води.

Слід відзначити, що кристалічну форму Gua вперше отримано ще в минулому столітті видатним українським вченим, членом Наукового Товариства ім. Т. Г. Шевченка, академіком І. Я. Горбачевським [9].

Вивчення структури дво- та одноланцюгових

молекул поліG [10] та їхньої взаємодії з іонами металів [11, 12] вимагало нагрівання до 97 °С, оскільки лише при температурах, вищих за 80 °С, чотириохланцюгові молекули полінуклеотидів починають розпадатися на дволанцюгові та частково плавитися до одноланцюгових.

Взагалі гуанін серед нуклеотидних основ вирізняється тим, що, коли йдеться про його структурні та фізико-хімічні властивості, він, як правило, характеризується найвищим ступенем ознаки. Так, за оцінкою в межах чотирьох квантово-хімічних методів [13] серед канонічних нуклеотидних основ Gua має найбільший дипольний момент.

Теоретична оцінка [14] показує, що з-поміж нуклеофільних місць незаміщених основ найвищий електростатичний потенціал має атом гуаніну N7, причому ця першість зберігається при переході основа → нуклеозид → нуклеотид → одноланцюгова спіраль → подвійна спіраль. Дослідження за допомогою маспектрометрії газозфазної протонної спорідненості основ та дезоксинуклеозидів також надає першість гуанінові та його нуклеозидові [15].

Теоретична оцінка в рамках методу AM1 ксилотно-лужних властивостей Gua [16] вказує на його амфотерність, котра є причиною зазначеної схильності до самоасоціації та здатності утворювати міцні міжмолекулярні комплекси.

Розрахунки напівемпіричними квантовохімічними методами AM1 та MNDO/H [17] свідчать, що серед канонічних нуклеотидних основ гуанін має найвищий бар'єр площинної інверсії та найнижчий бар'єр обертання аміногрупи, котрий зберігається достатньо низьким і в парі GC, що, як показано методом ЯМР у роботі [18], зумовлює здатність його аміногрупи обертатися навіть в основному стані пари, на відміну від аміногрупи цитозину, котра набуває такої здатності лише в перехідному напіврозкритому стані пари. Оцінка методом спектральної калориметрії засвідчує найбільшу серед інших канонічних нуклеотидних основ енергію міжмолекулярних зв'язків гуаніну в кристалах [19].

УФ спектр поглинання водних розчинів гуаніну відрізняється від спектрів інших нуклеотидних основ тим, що в області 260 нм він має два максимуми [4, 20, 21]. Порівняння УФ спектрів Gua, m⁷Gua та m⁹Gua привело до висновку, що у водних розчинах він існує як суміш таутомерів N7H та N9H [20]. У роботі [21] наведено дані експериментального дослідження іонних форм Gua та G, а також результати напівемпіричних квантово-механічних розрахунків електронної структури, проте розкладення УФ спектрів та віднесення компонентів не зроблено (на відміну від інших нукле-

отидних основ) за браком необхідної для цього інформації.

За теоретичною оцінкою [22] в рамках трьох методів вільна енергія гідрування має найбільше значення для гуаніну з-поміж канонічних основ. Комплекси гуаніну з іоном рутенію (III) вивчалися за допомогою низки фізичних методів [23]. Результати вивчення комплексів поліG з металами у водних розчинах представлено в роботі [12].

У водних розчинах при різних значеннях рН досліджували УФ спектри кількох метилпохідних гуаніну [24], серед яких m⁷Gua виявився здатним до флюоресценції. До речі, вказану властивість m⁷Gua використовували для доказу здатності протипухлинного препарату тіотефу алкілювати ДНК в сьомому положенні гуаніну [25].

Дослідження фотоперетворення нуклеотиду та нуклеозиду Gua під дією вакуумного ультрафіолетового опромінення [26] привело до висновку, що за відривання основи від цукровофосфатної частини нуклеозиду відповідальна фосфатна група, а прискорення фотолізу у водних розчинах на два порядки в порівнянні із сухими плівками зумовлене взаємодією з продуктами фотолізу води.

Завдяки поєднанню протондонорних та протонакцепторних властивостей гуанін схильний до прототропної таутомерії. Темі прототропної таутомерії гуаніну та деяких його похідних присвячено низку публікацій експериментального [6, 27—29] і в більшій мірі теоретичного [30—35] плану.

Плідним виявилось застосування до вивчення таутомерії методу ІЧ спектроскопії у поєднанні з ізоляцією в низькотемпературних матрицях. У роботі [6] показано, що Gua та m⁹Gua в ізольованому стані існують як суміш енол-амінних та кето-амінних таутомерів в аргонній та азотній матрицях, для яких оцінено константи енол-амінної рівноваги 3,6 та 5,9 для Gua та m⁹Gua відповідно. Результати робіт [27, 28] свідчать про те, що m⁹Gua в аргонній матриці існує як суміш однакової кількості аміно-кетонного та аміно-енольного таутомерів. Проте УФ опромінення зсуває цю таутомерну рівновагу на користь енольного таутомера [28], котрий здатний утворювати три водневих зв'язки з тимином, у чому автори вбачають можливість мутацій GC→AT.

Теоретичне дослідження таутомерії виконувалося методом *ab initio* різного рівня [30—36]. Результати робіт [30, 31] засвідчують загалом перевагу N7H аміно-кето форми. Проте через більший дипольний момент кето-амінного таутомера N9H прогнозується його стабілізація полярним оточенням. Згідно з результатами [31], ізольований гуанін існує як кето-амінний таутомер N9H. Ці

дані протирічать висновкам роботи [32], де основним вважається кето-амінний таутомер N9H. У роботі ж [36] йдеться про незначну перевагу кето-амінного таутомера N9H над таутомером N7H, котрий дестабілізується розчинником. Застосування напівемпіричних та *ab initio* квантовохімічних розрахунків до молекули $m^9\text{Gua}$ свідчить на користь кето-амінного таутомера з домішкою енольно-амінного.

Результати вивчення таутомерії тіо- та селеноаналогів гуаніну [31, 32], важливих з огляду на їхню протипухлинну дію, дають для них основні форми аміно-кето-N9H та аміно-кето-N7H відповідно. В роботах [34, 35] зроблено висновок, що в Уотсон-Криківській парі GC гуанін існує в канонічній формі як у газовій фазі, так і в полярному оточенні.

Важливість протонованої в положенні N7 ілідної цвітеріонної таутомерної форми Gua в механізмі обміну ^3H і ^1H між групою C8H і водою продемонстровано експериментально [37] та досліджено теоретично [38].

У зв'язку з проблемою білково-нуклеїнового впізнавання в різних модельних системах вивчали взаємодію похідних гуаніну з карбоксильною групою, що моделює бічний радикал аспарагінової та глутамінової кислот. Взаємодію Gua з нейтральною карбоксильною групою спостерігали в кристалічному стані [39], у нейтральних розчинниках [40, 41]. У ДМСО з домішкою води [42—45] та у воді [45] Gua утворює специфічний комплекс з депротонованою карбоксильною групою (карбоксилат-іоном). Серію робіт [46—50] присвячено дослідженню специфічності взаємодії низки похідних гуаніну з карбоксильною групою амінокислот та карбоксилат-іоном у зневодненому ДМСО.

Слід також відзначити, що висока самоасоціативність основи залишається справедливою і для гомополігуанілових нуклеотидів. Так, серед гомополірибонуклеотидних трактів у клітинних РНК найменш дослідженими є поліG послідовності [51] саме через цю обставину. Відомо, що поліG утворюють чотирьохланцюгові асоціати, в яких кожен з чотирьох Gua бере участь у формуванні чотирьох водневих зв'язків C=O:N1H та N7:N2H, виступаючи як донором, так і акцептором протонів одночасно [52]. G-квартетна модель структури теломерної ДНК, наведеної одновалентними катіонами [53], також пояснюється із залученням цієї схеми водневого зв'язування. Лише за практичної відсутності солей імунологічним методом зафіксовано одноланцюгову polyG [54].

Зовсім недавно [55] було запропоновано нову модель псевдочотирьохтяжової спіральної макромо-

лекулярної структури, утвореної 5'-монофосфатом гуанозину в розчині за допомогою таких самих H-зв'язків, як і в горизонтальних квартетах.

Огляд літератури, присвяченої дослідженню фізико-хімічних властивостей гуаніну, його похідних та аналогів у різних агрегатних станах та в різному оточенні, демонструє фрагментарність та неоднозначність отриманих результатів. Отже, існує необхідність систематичного вивчення низки похідних гуаніну за ідентичних експериментальних умов у рамках єдиного методу для коректного відстеження змін електронної структури при заміщенні та комплексоутворенні. УФ спектроскопія поглинання є чутливим інструментом дослідження електронної будови молекули.

У представленій роботі викладено результати дослідження у зневодненому ДМСО УФ спектрів низки метилпохідних гуаніну і гуанозину та їхніх комплексів з карбоксильною групою амінокислот, що моделюють точкові білково-нуклеїнові контакти. Отримані результати обговорюються з урахуванням літературних даних. Відзначимо, що серед досліджених похідних гуаніну $m^7\text{G}$ привертає особливу увагу з точки зору функціонування геному та генотоксичної модифікації НК. Він є основним продуктом алкілювання ДНК та РНК, міноним нуклеозидом ДНК, рибосомних та транспортних РНК [57, 58], важливим компонентом *cap* структури матричних РНК еукаріот. Міноними компонентами рибосомних та транспортних РНК є також $m^1\text{G}$, $m^2\text{G}$ та *isoGua* [57, 58].

Матеріали і методи. В роботі використано такі похідні гуаніну: $m^9\text{Gua}$, $m_2^{2,9}\text{Gua}$, $m^1\text{Gua}$, $m^7\text{Gua}$, $m_2^{1,7}\text{Gua}$, $m^3\text{Gua}$, G — фірми «Fluka» (Швейцарія); $m^7\text{G}$, *isoGua* — фірми «Sigma» (США); $m^1\text{G}$, $m^2\text{G}$ — фірми «Serva» (Німеччина); dG — фірми «Aldrich» (США). Взаємодію цих основ та нуклеозидів з нейтральною карбоксильною групою вивчали в сумішах з ac-Asp, ac-Gly, ac-Asp-OMe — фірми «Serva», ac-Glu — фірми «Sigma» та з дисоційованою карбоксильною групою в сумішах з NaAc фірми «Реахим» (Росія) та синтезованою А. Г. Терентєвим f-GlyONa. ДМСО зневоднювали молекулярними ситами (0,4 та 0,5 мкм) фірми «Serva». Щоб упевнитися у відсутності впливу іонів натрію на спектри досліджуваних основ та нуклеозидів, вивчали їхню взаємодію з перхлоратом натрію фірми «Реахим».

Сpektри УФ поглинання основ та їхніх комплексів реєстрували на спектрофотометрі MPS-2000 («Shimadzu», Японія) в кварцових кюветах з довжиною оптичного шляху 1 мм. Концентрація гуаніну та його похідних дорівнювала $5 \cdot 10^{-4}$ М, концентрація лігандів — $5 \cdot 10^{-3}$ М. Диференційні

спектри комплексів (ДС) отримували за відомою методикою [1].

Геометричні, електронні та енергетичні характеристики комплексів таутомерних форм Gua з карбоксилат-іоном у вільному стані розраховували напівемпіричним квантовохімічним методом MNDO/H у режимі оптимізації всіх структурних параметрів з нормою градієнта $\leq 0,01$.

Результати та обговорення. Через низьку розчинність ми не змогли отримати розчин незаміщеного Gua у зневодненому ДМСО. Проте для повноти картини ми все ж наведемо ті скупі експериментальні дані для Gua (який є власне вихідною сполукою для дослідженої серії), що відомі з літератури. В УФ спектрі сухої плівки Gua є дві смуги з максимумами 252 та 282 нм [8]. При зволоженні водяним паром до утворення кристалогідратної плівки довгохвильова смуга зміщується до 302 нм, а короткохвильова стає розмитим плечем ≈ 245 нм на фоні більш короткохвильової за неї смуги.

За даними роботи [4], в УФ спектрі дуже розбавленого водного розчину Gua присутня смуга 273 нм з плечем ≈ 283 нм, а також широка смуга поглинання з максимумом ≈ 244 – 247 нм, на якій можна вирізнити плече ≈ 252 нм. Порівняння результатів цих двох досліджень вказує на такі спільні риси УФ спектрів сухої плівки та розбавленого водного розчину Gua, як смуги 252 та 282 нм. Смуга 302 нм є характерною для впорядкованого кристалогідратного стану, а поглинання з максимумом 273 нм — для водного розчину. Однак слід зауважити, що в роботі [4] відсутні дані щодо процедури отримання розчину, значення рН, а також про режим накопичення при реєстрації спектра, котрий вкрай необхідний при значеннях абсорбції (1 %, як вказує автор), що межують з точністю традиційних приладів. Все це, на жаль, у значній мірі знецінює результати цієї унікальної роботи.

У табл. 1 представлено довжини хвиль максимумів λ_{\max} , та оптичні густини D у максимумах спектрів УФ поглинання у зневодненому ДМСО похідних гуаніну за відсутності та в присутності лігандів з нейтральною та депротонованою (карбоксилат-іон) карбоксильною групою. Для порівняння наводяться літературні дані [20, 56, 57, 60, 61] для водних розчинів при різних рН; I_{\max} та коефіцієнт поглинання в максимумі, а також значення pK . За еволюцією УФ спектрів досліджуваних сполук при взаємодії з низькою лігандів, що містять нейтральну та іонізовану форми карбоксильної групи, дають змогу простежити дані, наведені в табл. 2.

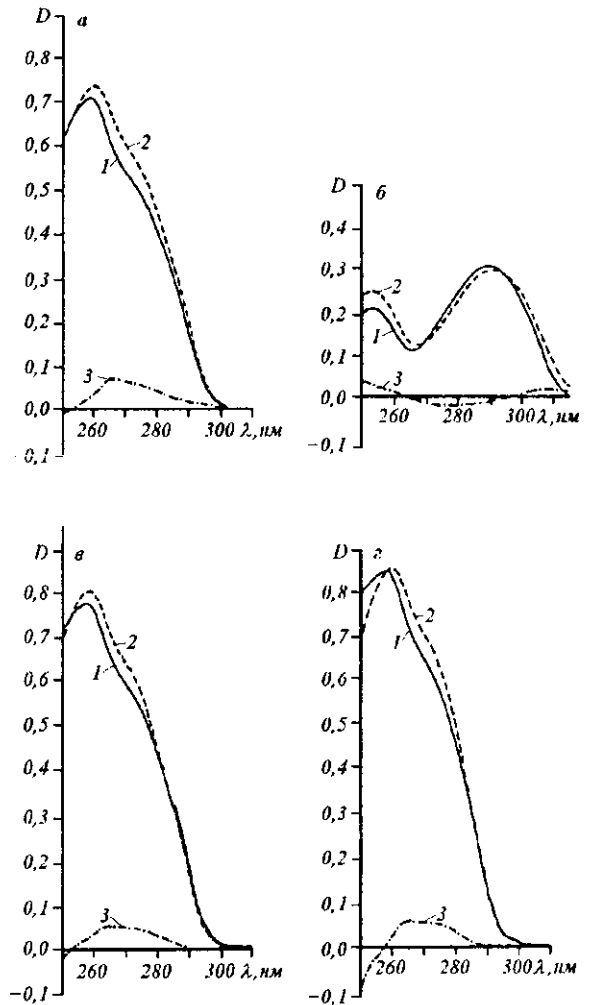


Рис. 1. УФ спектри поглинання в ДМСО: а — m^9 Gua (1), його суміші з NaAc (2) і ДС (3); б — m^7 Gua (1), його суміші з NaAc (2) і ДС (3); в — G (1), його суміші з NaAc (2) і ДС (3); г — dG (1), його суміші з NaAc (2) і ДС (3). Концентрація основ 0,5 мМ, NaAc — 5 мМ

9-Метилгуанін. УФ спектр m^9 Gua виявився залежним від розчинника. Основний максимум УФ спектра в ДМСО (259 нм) зміщений на 7 нм у бік довгих хвиль, а плече 275 нм — на 2 нм в бік коротких хвиль у порівнянні з водними розчинами m^9 Gua та e^9 Gua при нейтральних значеннях рН (табл. 1).

Наявність помітного диференційного УФ поглинання m^9 Gua в присутності NaAc (рис. 1, а)

Таблиця 1
Характеристики УФ спектрів та значення рК гуаніну, гуанозину та їхніх похідних

Речовина	у Н ₂ О [17, 51, 52, 55, 56]			
	рК _b	рК _a	рН	λ _{max}
—	—	—	1	251
—	2,9	9,8	—	276
m ⁹ Gua (e ⁹ Gua)	3,0	—	—	—
—	—	—	—	—
—	—	—	13	258
—	—	—	—	268
—	3,3	8,9	1	250
—	—	—	—	279
m ₂ ^{2,9} Gua	—	—	7	249
—	—	—	—	277
—	—	—	11	244
—	—	—	—	278
—	—	—	1	250
—	—	10,5	—	272
m ¹ Gua	3,1	10,4	7	248
—	3,2	—	—	272
—	—	—	13	277
—	—	—	—	—
—	—	—	1	250
—	—	9,9	—	272
m ⁷ Gua (e ⁷ Gua)	3,5	9,4	7	248
—	—	10,0	—	283
—	—	—	12	280
—	—	—	—	—
—	—	—	—	—
e ₂ ^{1,7} Gua	—	—	—	—
—	—	—	—	—
—	—	—	—	—
—	—	—	—	—
—	—	—	1	244
—	4,0	—	—	263
m ³ Gua (e ³ Gua)	—	—	—	—
—	—	—	—	—
—	—	—	13	273
—	—	—	—	—
—	—	—	2	284
—	4,5	9,0	—	—
isoGua	—	—	7	240
—	—	—	—	286
—	—	—	12	284
—	—	—	—	—

У Н ₂ O [17, 51, 52, 55, 56]			У ДМСО (наші дані)		
pH	λ_{\max}	$\epsilon_{\max} \cdot 10^{-3} / D$	D	λ_{\max}	D
1	252	0,63	m ⁹ Gua+ac-Asp	259	0,706
—	277	0,41		275	0,480
7	252	0,63	m ⁹ Gua	259	0,706
—	277	0,41		275	0,480
13	254	0,64	m ⁹ Gua+NaAc	260	0,732
—	268	0,63		275	0,540
—	—	—	m ₂ ^{2,9} Gua+ac-Asp	256	0,651
—	—	—		275	0,430
—	—	—	m ₂ ^{2,9} Gua	256	0,651
—	—	—		275	0,430
—	—	—	m ₂ ^{2,9} Gua+NaAc	259	0,662
—	—	—		275	0,466
1	250	10,8	m ¹ Gua+ac-Asp	256	0,588
—	271	7,6		275	0,430
7	248	10,7	m ¹ Gua	256	0,588
—	272	8,5		275	0,430
13	278	9,3	m ¹ Gua+NaAc	257	0,559
—	—	—		275	0,435
1	250	0,9	m ⁷ Gua+ac-Asp	253	0,219
—	273	0,65		290	0,311
7	248	0,6	m ⁷ Gua	253	0,219
—	282	0,68		290	0,311
13	279	0,73	m ⁷ Gua+NaAc	253	0,259
—	—	—		291	0,302
1	252	0,92	m ₂ ^{1,7} Gua+ac-Asp	255	0,274
—	275	0,63		291	0,339
7	252	0,56	m ₂ ^{1,7} Gua	255	0,274
—	283	0,66		291	0,339
13	250	0,52	m ₂ ^{1,7} Gua+NaAc	255	0,274
—	285	0,64		291	0,339
1	244	0,45	m ³ Gua+ac-Asp	267	0,556
—	263	0,58		277	0,370
7	269	0,43	m ³ Gua	267	0,556
—	—	—		277	0,370
13	273	0,70	m ³ Gua+NaAc	269	0,575
—	—	—		277	0,480
1	235	6,14	isoGua+ac-Asp	255	0,140
—	283	12,70		293	0,496
7	247	8,90	isoGua	247	—
—	293	11,10		293	0,470
13	251	6,90	isoGua+NaAc	252	0,230
—	285	10,55		293	0,490

Закінчення табл. 1

Речовина	У Н ₂ O [17, 51, 52, 55, 56]				
	ρ_{Kb}	ρ_{Ka}	pH	λ_{max}	$\epsilon_{max} \cdot 10^{-3}/D$
G	—	—	0,7	256	12,3
	1,6	9,2	—	—	—
	2,23	9,15	6	253	13,6
	—	9,24	—	—	—
	—	—	11,3	256	11,3
	—	—	—	266	—
m ¹ G	—	—	1	258	11,4
	2,4	—	—	—	—
	—	—	6	256	13,1
	—	—	—	—	—
	—	—	13	256	12,9
	—	—	—	—	—
m ² G	—	—	1	259	14,2
	2,3	9,7	—	—	—
	—	—	7	253	15,9
	—	—	—	—	—
	—	—	13	258	12,0
	—	—	—	—	—
m ⁷ G (e ¹ G)	—	—	3	257	10,7
	7,0	—	—	—	—
	—	—	7	258	8,5
	—	—	—	281	7,4
	—	—	9	282	8,0
	—	—	—	—	—

П р и м і т к а. Значення λ_{max} надані в нм; D — оптична густина.

свідчить про утворення комплексу. Характер зміни УФ спектра m⁹Gua (незначний гіперхромізм та зменшення відстані між основним максимумом та плечем) у якійсь мірі подібний до змін УФ спектра водного розчину при переході до лужних значень pH (табл. 1). Проте незначна величина цих змін не може свідчити про помітний внесок протонowanego стану основи в її комплекс з карбоксилат-іоном. Тим більше, що, за даними ЯМР [42, 48], взаємодія карбоксилат-іона з m⁹Gua відбувається через два водневі зв'язки з іміно- та амінопротоном за схемою I (рис. 2), котра не передбачає депротонування основи [39].

Зміни в УФ спектрі m⁹Gua в присутності ас-Asp не спостерігалися (табл. 1, 2), що вказує на відсутність взаємодії m⁹Gua з нейтральною карбоксильною групою в ДМСО. Проте це не означає, що така взаємодія не може мати місця за умови менш полярного оточення.

Так, за даними для кристалу модельної сполуки 9-(2-карбоксиетил)гуаніну (замісник в положенні основи N9 моделює карбоксильну групу амінокислот) [39], нейтральна карбоксильна група утворює два Н-зв'язки, взаємодіючи з протоном аміногрупи та атомом N3. У співкристалізіаті 9-(2-карбоксиетил)гуаніну з m¹Cyt утворюється Уотсон-

У Н ₂ O [17, 51, 52, 55, 56]			У ДМСО (наші дані)		
pH	λ_{\max}	$\epsilon_{\max} \cdot 10^{-3}/D$	D	λ_{\max}	D
1	256	0,85	G+ac-Asp	258	0,778
—	275	0,61		273	0,560
7	253	0,95	G	258	0,778
—	273	0,68		273	0,560
13	258	0,75	G+NaAc	259	0,807
—	266	0,77		273	0,600
1	258	0,75	m ¹ G+ac-Asp	260	0,847
—	280	0,53		273	0,660
7	254	0,88	m ¹ G	260	0,847
—	270	0,66		273	0,660
13	255	0,85	m ¹ G+NaAc	260	0,847
—	270	0,66		273	0,660
—	—	—	m ² G+ac-Asp	258	0,882
—	—	—		275	0,580
—	—	—	m ² G	258	0,882
—	—	—		275	0,580
—	—	—	m ² G+NaAc	259	0,874
—	—	—		275	0,600
1	258	0,84	m ⁷ G+ac-Asp	263	0,555
—	277	0,63		285	0,320
7	257	0,82	m ⁷ G	263	0,331
—	278	0,64		289	0,315
13	270	0,63	m ⁷ G+NaAc	262	0,204
—	—	—		295	0,338

Криківська пара, а карбоксильна група, набираючи антиперипланарної конформації, утворює дуже короткий водневий зв'язок з атомом гуаніну N7 із сусідньої пари з відстанню N:O, що складає 2,663 Å. Це узгоджується також з даними спектроскопічного дослідження взаємодії m^{2,9}Gua з масляною кислотою в менш полярних розчинниках [40].

7-Метилгуанін. УФ спектр m⁷Gua радикально відрізняється від спектра m⁹Gua. Відстань між двома максимумами 253 та 290 нм значно перевищує таку між основним максимумом 259 та плечем 275 нм у спектрі m⁷Gua (табл. 1). При цьому на противагу до спектра m⁹Gua довгохвильова смуга

значно інтенсивніша, ніж короткохвильова. Вочевидь, приєднання метильної групи до атома гуаніну N7 пов'язано зі зміною його гібридизації, котра викликає суттєву перебудову електронної структури пуринового кільця внаслідок порушення спряження в імідазольному фрагменті.

Низька розчинність m⁷Gua в ДМСО в порівнянні з m⁹Gua, ймовірно, зумовлена його схильністю до самоасоціації. Відомо, що в таутомерів пурину N7H вона вища, ніж у таутомерів N9H [62], так само як і для заміщених у положенні N7 гуанінів [63, 64], котрі є, по суті, структурно зафіксованими таутомерами N7H.

Таблиця 2

Зміна смуг УФ поглинання гуаніну та його похідних у зневодненому ДМСО в присутності лігандів з нейтральною і

Речовина	λ_{\max} (D)	+ac-Asp		+ac-Glu		+ac-Gly
		λ_{\max} (D)**	λ_{\max} (ΔD)	λ_{\max} (D)	λ_{\max} (ΔD)	λ_{\max} (D)
m ⁹ Gua	259 (0,706); 275sh* (0,480)	259 (0,706) 275sh (0,480)	—	259 (0,706) 275sh (0,480)	—	259 (0,706) 275sh (0,480)
m ₂ ^{2,9} Gua	256 (0,651) 275sh (0,430)	256 (0,651) 275sh (0,430)	—	256 (0,651) 275sh (0,430)	—	256 (0,651) 275sh (0,430)
m ¹ Gua	256 (0,583) 275sh (0,425)	256 (0,583) 275sh (0,425)	—	256 (0,583) 275sh (0,425)	—	256 (0,583) 275sh (0,425)
m ₂ ^{1,7} Gua	255 (0,274) 291 (0,339)	255 (0,274) 291 (0,339)	—	255 (0,274) 291 (0,339)	—	255 (0,274) 291 (0,339)
m ⁷ Gua	253 (0,219) 290 (0,311)	253 (0,219) 290 (0,311)	—	253 (0,219) 290 (0,311)	—	253 (0,219) 290 (0,311)
m ³ Gua	267 (0,556) 277 (0,370)	267 (0,553) 277 (0,368)	268 (-0,003) 278 (-0,005)	267 (0,556) 277 (0,370)	—	267 (0,556) 277 (0,370)
isoGua	≈247 293 (0,470)	255 (0,140) 293 (0,496)	254 (-0,140) 289 (+0,023) 315 (-0,024)	255 (0,150) 293 (0,475)	290 (+0,003) 315 (-0,007)	252 (0,160) 293 (0,477)
G	258 (0,778) 273sh (0,560)	258 (0,778) 273sh (0,560)	—	258 (0,778) 273sh (0,560)	—	258 (0,778) 273sh (0,560)
dG	258 (0,851) 273sh (0,602)	258 (0,851) 273sh (0,602)	—	258 (0,851) 273sh (0,602)	—	258 (0,851) 273sh (0,602)
m ¹ G	260 (0,817) 273sh (0,660)	260 (0,817) 273sh (0,660)	—	260 (0,817) 273sh (0,660)	—	260 (0,817) 273sh (0,660)
m ² G	258 (0,882) 275sh (0,580)	258 (0,882) 275sh (0,580)	—	258 (0,882) 275sh (0,580)	—	258 (0,882) 275sh (0,580)
m ⁷ G	263 (0,331) 289 (0,315)	263 (0,555) 285 (0,320)	263 (+0,219) 307 (-0,132)	263 (0,548) 289 (0,330)	264 (+0,213) 307 (-0,123)	263 (0,530) 289 (0,328)

Примітка. Див. табл. 1. *Плече; **довжина хвилі та оптична густина в максимумі ДС.

У роботі [24] показано, що у водному розчині нейтральний m⁷Gua при збудженні світлом з $\lambda \geq 240$ нм флюоресцює з квантовим виходом 10^{-2} , який зростає на порядок для аніонної форми.

Гіперхромізм смуги 253 нм та незначний батохромний зсув смуги 291 нм у спектрі m⁷Gua в присутності NaAc (рис. 1, б; табл. 1, 2) свідчать про утворення комплексу з карбоксилат-іоном, слабшого, ніж для m⁹Gua, що може бути наслідком самоасоціації. Ймовірна схема взаємодії m⁷Gua з

карбоксилат-іоном така сама, як і для m⁹Gua (рис. 2, схема 1D).

У співкристалізаті m⁷Gua з індол-3-оцтовою кислотою [63] утворюється подібний комплекс з карбоксилат-іоном через два водневі зв'язки з атомами водню N1H та N2H.

Взаємодії m⁷G з нейтральною карбоксильною групою в ДМСО за допомогою УФ спектроскопії зареєструвати не вдалося.

Гуанозин та дезоксигуанозин. Заміна метиль-

депротонованою карбоксильними групами

λ_{\max} (ΔD)	+ac-Asp-OMe		+F-Gly(ONa)		+NaAc	
	λ_{\max} (D)	λ_{\max} (ΔD)	λ_{\max} (D)	λ_{\max} (ΔD)	λ_{\max} (D)	λ_{\max} (ΔD)
—	259 (0,706) 275sh (0,480)	—	259 (0,714) 275 (0,500)	265 (+0,021); 275 (+0,014); 291 (+0,008)	260 (0,732) 275 (0,540)	266 (+0,066) 275 (+0,045) 292 (+0,010)
—	256 (0,651) 275sh (0,430)	—	258 (0,654) 275 (0,440)	265 (+0,022); 273 (+0,011); 294 (+0,004)	259 (0,662) 275 (0,446)	266 (+0,060) 273 (+0,040) 294 (+0,015)
—	256 (0,583) 275Sh (0,425)	—	256 (0,583) 275sh (0,425)	—	257 (0,559) 275 (0,435)	253 (-0,022) 268 (+0,006) 293 (+0,014)
—	255 (0,274) 291 (0,339)	—	255 (0,274) 291 (0,339)	—	255 (0,274) 291 (0,339)	—
—	253 (0,219) 290 (0,311)	—	254 (0,229) 291 (0,312)	253 (+0,010); 279 (-0,012); 308 (+0,010)	253 (0,259) 291 (0,302)	253 (+0,040) 281 (-0,023) 307 (+0,028)
—	267 (0,556) 277 (0,370)	—	267 (0,556) 277 (0,370)	—	269 (0,575) 277 (0,480)	258 (-0,022) 275 (+0,099) 284 (+0,150)
254 (-0,006) 289 (+0,008) 313 (-0,006)	293 (0,470)	—	250 (0,250) 293 (0,427)	250 (+0,150); 292 (-0,062); 317 (+0,018)	252 (0,230) 293 (0,498)	272 (-0,021) 290 (+0,016) 302 (+0,026) 310 (+0,006) 321 (-0,016)
—	258 (0,778) 273sh (0,560)	—	259 (0,773) 273 (0,565)	266 (+0,009) 271 (+0,006)	259 (0,807) 273 (0,600)	266 (+0,056) 273 (+0,049)
—	258 (0,851) 273sh (0,602)	—	259 (0,834) 273 (0,612)	266 (+0,013) 275 (+0,010)	259 (0,855) 273 (0,660)	266 (+0,064) 273 (+0,060)
—	260 (0,817) 273sh (0,660)	—	260 (0,817) 273sh (0,660)	—	260 (0,817) 273sh (0,660)	—
—	258 (0,882) 275sh (0,580)	—	258 (0,896) 275 (0,600)	265 (+0,030) 273 (+0,020)	259 (0,874) 275 (0,600)	267 (+0,028) 273 (+0,020)
264 (+0,194)	264 (0,414) 287 (0,317)	266 (+0,062)	263 (0,214) 293 (0,327)	263 (-0,129)	262 (0,204) 295 (0,338)	263 (-0,146)
308 (-0,110)		311 (-0,031)		307 (-0,061)		306 (+0,084)

ної групи m^9G на рибозу та дезоксирибозу не вносить кардинальних змін до УФ спектра. Для обох нуклеозидів G та dG при збереженні загальної форми спектрів характерним є гіпсохромний зсув на 1 нм основної смуги поглинання та плеча — на 2 нм.

Поява диференційного УФ поглинання G (рис. 1, в) та dG (рис. 1, з) у присутності NaAc вказує на утворення комплексів з карбоксилат-іоном. Спектральний прояв комплексоутворення дещо ви-

разніший, ніж у випадку m^9Gua (табл. 1, 2), тобто в складі нуклеозидів Gua не тільки зберігає, а й в якійсь мірі підсилює здатність взаємодіяти з депротонованою карбоксильною групою, що не протирічить значенням pK : для G pK_a складає 9,2, для dG — 9,3, для m^9Gua — 9,8 (табл. 1).

Відомо, що в ДМСО карбоксилат-іон здатний також взаємодіяти з гідроксильними групами рибози та дезоксирибози через один або два зв'язки [65]. Отримані нами результати свідчать про те,

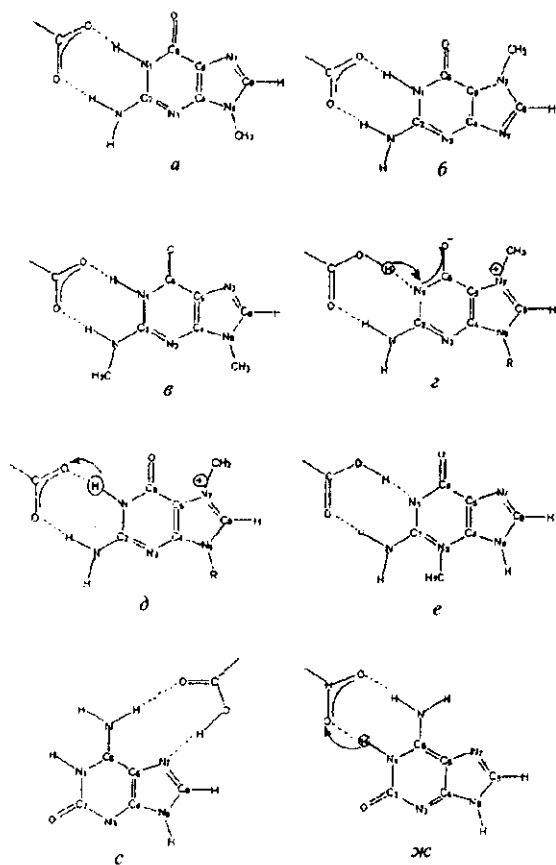


Рис. 2. Схеми взаємодії: а — $m^9\text{Gua}$ з NaAc ; б — $m^7\text{Gua}$ з NaAc ; в — $m^{2,9}\text{Gua}$ з NaAc ; г — $m^7\text{G}$ з ac-Asp ; д — $m^7\text{G}$ з NaAc ; е — $m^3\text{Gua}$ з ac-Asp ; ж — isoGua з ac-Asp ; з — isoGua з NaAc ;

що карбоксилат-іон утворює стабільніші комплекси з агліконом, ніж з глікозидними фрагментами нуклеозидів.

Однак, за даними роботи [45], константа зв'язування G з карбоксилат-іоном у ДМСО в суміші з 0,6 М домішкою води дещо нижча (85 M^{-1}), ніж для $m^9\text{Gua}$ (110 M^{-1}), що автор пояснює конкурентним зв'язуванням гідроксильних груп рибози. При поступовому додаванні води (від 0,6 до 13,7 М) до ДМСО спостерігалася помітне зменшення константи асоціації з карбоксилат-іоном, проте в кожній суміші вона на 1—2 порядки перевищувала константу утворення Уотсон-Криківської пари. На наш погляд, зниження отриманих в роботі [45] констант асоціації зумовлене не так конкуренцією з

боку рибози за зв'язування з карбоксилат-іоном, як відмінністю у гідратації $m^9\text{Gua}$ та G.

Прикладом зв'язування карбоксилат-іона з G є взаємодія Glu-46 в активному центрі рибонуклеази T1 із специфічним інгібітором 2'GMP [66]. Депротонувана карбоксильна група бічного радикалу Glu46 утворює комплекс з G, зв'язуючися з імінопротоном N1H та амінопротоном у повній відповідності до даних [42—46].

У комплексі пеніциліну з Gua [67], дослідженому за допомогою ЯМР, встановлено дещо іншу схему взаємодії: депротонувана карбоксильна група взаємодіє з іміногрупою N1H, а один атом водню аміногрупи утворює H-зв'язок з карбонільною групою пеніциліну.

З нейтральною карбоксильною групою взаємодії незамішених нуклеозидів гуаніну не спостерігалася.

1-Метилгуанін. Спектр УФ поглинання $m^1\text{Gua}$ в ДМСО подібний до такого $m^9\text{Gua}$, що свідчить про локалізацію імінопротона на атомі N9: розташування довгохвильових плечей збігаються (275 нм), а основна смуга поглинання 256 нм зазнає гіпохромного зсуву на 3 нм у порівнянні з $m^9\text{Gua}$. Вочевидь, заміщення екзоциклічних атомів водню іміногрупи N1H та N9H не змінюють гібридизації атомів азоту, отже, і не впливають суттєво на електронну будову хромофору Gua — пуринового кільця.

Характер зміни УФ спектра $m^1\text{Gua}$ (гіпохромізм і батохромний зсув смуги 256 нм на 3 нм та гіперхромізм плеча 275 нм) у присутності NaAc (рис. 3, а) відповідає зміні спектра $m^1\text{Gua}$ при переході до лужних значень рН (табл. 1). Величина цих змін менша, ніж у випадку $m^9\text{Gua}$. Ймовірно, взаємодія карбоксилат-іона з $m^1\text{Gua}$ відбувається з утворенням одного H-зв'язку з іміногрупою N9H, на відміну від $m^9\text{Gua}$, який взаємодіє з карбоксилат-іоном через два H-зв'язки із залученням імінопротона N1H та сусіднього амінопротона.

Зазначимо, що, згідно з даними [24], у водному розчині при збудженні світлом з $\lambda = 294 \text{ нм}$ спостерігалася флюоресценція катіонної форми $m^1\text{Gua}$ з $\lambda_{\text{max}} = 350 \text{ нм}$.

Присутність у розчині ac-Asp не впливає на УФ спектр $m^1\text{Gua}$. Отже, він не взаємодіє з нейтральною карбоксильною групою.

1,7-Диметилгуанін та 1-метилгуанозин. УФ спектр $m^{2,7}$ -диметилгуаніну (рис. 3, б, 1) радикально відрізняється від спектра $m^9\text{Gua}$, G, dG, $m^1\text{Gua}$ та дуже подібний до спектра $m^7\text{Gua}$: в порівнянні з $m^7\text{Gua}$ його короткохвильова смуга 255 нм зміщена в бік довгих хвиль всього на 2 нм, а довгохвильова 290 нм — на 1 нм. Це свідчить про

вирішальний внесок метилювання атома N7 пуринового кільця в формування електронної будови хромофора.

УФ спектр m^1G (рис. 3, б, 2) за формою подібний до спектра m^1Gua , але його основна смуга 260 нм та плече 273 нм дещо зближені в порівнянні з m^1Gua (256 та 275 нм відповідно).

УФ спектри $m_2^{1,7}G$ та m^1G не зазнають помітних змін у присутності як NaAc, так і ас-Asp (табл. 1, 2), що свідчить про їхню нездатність взаємодіяти в ДМСО з обома формами карбоксильної групи і тим самим підтверджує вирішальне значення іміногрупи NH для зв'язування з депротонованою карбоксильною групою.

До речі, саме тому $poly m^1G$ при pH 7 не утворює вторинної структури та комплексів з $poly C$, $poly A$ та $poly I$ [61].

У спектрах ЯМР m^1G у присутності NaAc у безводному ДМСО [48] та з додаванням води [42] спостерігався дуже слабкий низькопольовий зсув амінопротона m^1G , що може свідчити про слабку взаємодію з карбоксилат-іоном. До певної міри взаємодію NaAc з m^1G можна розглядати як модель взаємодії депротонованої карбоксильної групи амінокислот з гуаніном пари G·C з боку малої борозенки тРНК.

Дійсно, одним з дуже важливих специфічних контактів, що визначають зв'язування тРНК^{Glu} з глутамініл-АРСазою, є взаємодія карбоксилат-іона бічного радикала Asp-235 з аміногрупою пари G2·C71 акцепторного стебла [68].

За даними кристаллографічного дослідження інтактного вірусу тютюнової мозаїки [69], Asp-115 його білкової оболонки утворює Н-зв'язок з аміногрупою G та з гідроксильною групою рибози.

2,9-Диметилгуанін. Загальний вигляд УФ спектра $m_2^{2,9}$ -диметилгуаніну нагадує спектри його похідних (m^9Gua , m^1Gua , G, dG), котрі не змінюють суттєво спряження в пуриновому кільці порівняно з Gua (рис. 3, в; табл. 2). Монозаміщення аміногрупи в $m_2^{2,9}Gua$ спричиняє лише гіпсохромний зсув основної смуги 256 нм на 3 нм (табл. 2).

Характер зміни УФ спектра $m_2^{2,9}Gua$ в присутності NaAc (рис. 3, в) такий же, як і для суміші m^9Gua з NaAc, що вказує на подібність їхніх комплексів з карбоксилат-іоном. Однак викликані комплексоутворенням зміни в УФ спектрі $m_2^{2,9}Gua$ кількісно перевищують такі зміни для комплексу m^9Gua з NaAc.

Так, смуга 256 нм $m_2^{2,9}Gua$ зазнає на 2 нм більшого батохромного зсуву, ніж відповідна їй смуга 259 нм m^9Gua , що можна інтерпретувати як значно сильнішу взаємодію карбоксилат-іона з $m_2^{2,9}Gua$ порівняно з m^9Gua . Ймовірно, це пов'язано з підвищенням кислотності амінопротона гуаніну при монOMETИЛЗАМІЩЕННІ його аміногрупи (табл. 1). Певно з підвищенням NH-кислотності $m_2^{2,9}Gua$ збільшується його здатність до самоасоціації з утворенням ди- і тетрамерів [70]. Саме цим можна пояснити нижчу розчинність у ДМСО $m_2^{2,9}Gua$ порівняно з m^9Gua .

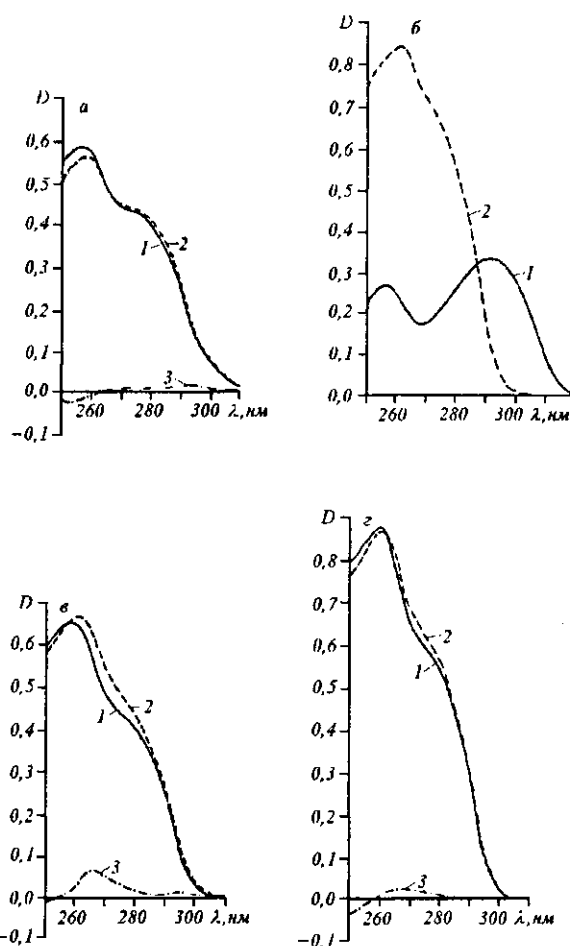


Рис. 3. УФ спектри поглинання в ДМСО: а — m^7Gua (1), його суміші з NaAc (2) і ДС (3); б — $m_2^{1,7}Gua$ (1), m^1G (2); в — $m_2^{2,9}Gua$ (1), його суміші з NaAc (2) і ДС (3); г — m^2G (1), його суміші з NaAc (2) і ДС (3). Концентрація основ 0,5 мМ, NaAc — 5 мМ

но з підвищенням кислотності амінопротона гуаніну при монOMETИЛЗАМІЩЕННІ його аміногрупи (табл. 1). Певно з підвищенням NH-кислотності $m_2^{2,9}Gua$ збільшується його здатність до самоасоціації з утворенням ди- і тетрамерів [70]. Саме цим можна пояснити нижчу розчинність у ДМСО $m_2^{2,9}Gua$ порівняно з m^9Gua .

Схема взаємодії $m_2^{2,9}Gua$ з карбоксилат-іоном

(рис. 2, схема *в*) аналогічна до схеми взаємодії з ним $m^9\text{Gua}$ (рис. 2, схема *а*). Очевидно, в зазначеному комплексі метильна група обернена в бік атома N3 пуринового кільця.

З нейтральною карбоксильною групою амінокислот взаємодія $m^{2,9}\text{Gua}$ за допомогою УФ спектроскопії не зареєстрована.

2-Метилгуанозин. УФ спектр $m^2\text{G}$ (рис. 3, *г*) досить близький до щойно розглянутого спектра $m^{2,9}\text{Gua}$. Відмінність між ними обмежується батохромним зсувом на 2 нм основної смуги поглинання $m^2\text{G}$ 258 нм і гіперхромізмом вказаної смуги та довгохвильового плеча 275 нм (положення якого збігається в обох спектрах) у порівнянні з $m^{2,9}\text{Gua}$. На наш погляд, гіперхромізм може бути зумовлений збільшенням полярності $m^2\text{G}$ відносно $m^{2,9}\text{Gua}$ внаслідок заміни метильної групи на більш полярний рибозильний фрагмент.

Характер зміни УФ спектра суміші NaAc з $m^2\text{G}$ (табл. 1, 2) нагадує зміни в спектрі його суміші з $m^{2,9}\text{Gua}$, однак менші за величиною, що можна інтерпретувати як взаємодію $m^2\text{G}$ з карбоксилат-іоном за схемою, подібною до утворюваної $m^{2,9}\text{Gua}$ в комплексі з депротонованою карбоксильною групою. За даними ЯМР [46—49], одноразове метилзаміщення аміногрупи як в $m^{2,9}\text{Gua}$, так і в $m^2\text{G}$ призводить до значного підсилення взаємодії з карбоксилат-іоном внаслідок підсилення кислотності позосталого амінопротона.

Взаємодії $m^2\text{G}$ з нейтральною карбоксильною групою в безводному ДМСО не зафіксовано (табл. 1, 2).

Отже, монOMETИЛЮВАННЯ аміногрупи гуаніну підсилює взаємодію його похідних з карбоксилат-іоном та, ймовірно, зміцнює пару $m^2\text{G}\cdot\text{C}$, котра часто спостерігається в тРНК перед неспареними ділянками [57, 58] та є вірогідною «скріпкою» її вторинної структури.

7-Метилгуанозин. Відомо, що в змішаних кристалах з ароматичними амінокислотами $m^7\text{G}$ перебуває в позитивно зарядженій формі [71], а у воді при нейтральних значеннях рН [64, 72] і в ДМСО [72, 73] існує рівновага між позитивно зарядженою формою В та нейтральною формою А $m^7\text{G}$.

УФ спектр поглинання $m^7\text{G}$ у безводному ДМСО має дві смуги 263 та 289 нм приблизно однакової інтенсивності (рис. 4).

Від спектрів $m^7\text{Gua}$ та $m^{1,7}\text{Gua}$ він суттєво відрізняється положенням височастотної смуги 263 нм, котра зазнає значного батохромного зсуву в порівнянні з відповідними смугами похідних гуаніну, метильованих в положенні N7.

У сумішах з ас-Asp зростає інтенсивність смуги 263 нм (рис. 4, *а*), а в суміші з NaAc (рис. 4, *г*) —

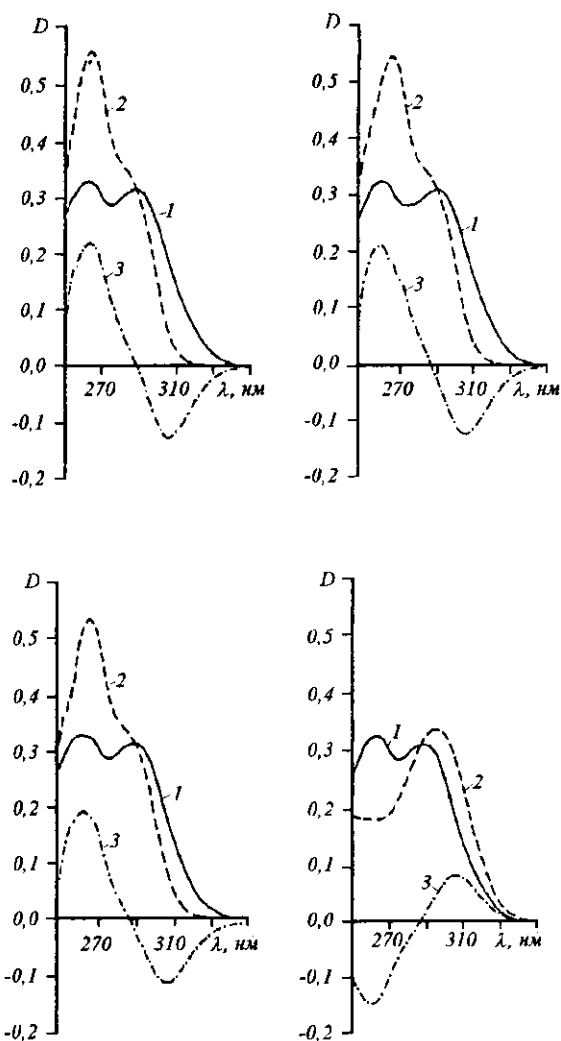


Рис. 4. УФ спектри поглинання в ДМСО: *а* — $m^7\text{G}$ (1), його суміші з ас-Asp (2) і ДС (3); *б* — $m^7\text{G}$ (1), його суміші з ас-Glu (2) і ДС (3); *в* — $m^7\text{G}$ (1), його суміші з ас-Glu (2) і ДС (3); *г* — $m^7\text{G}$ (1), його суміші з NaAc (2) і ДС (3). Концентрація основ 0,5 мМ, NaAc — 5 мМ

смуги 289 нм, котра до того ж зазнає батохромного зсуву на 6 нм. Ці зміни в УФ поглинанні $m^7\text{G}$ при комплексоутворенні з нейтральною та депротонованою карбоксильними групами дають змогу віднести смугу 263 нм до форми В, а смугу 289 нм — до форми А. Величина піків ДС вказує на такий порядок переважного зв'язування N-ацилпохідних

амінокислот: $\text{ас-Asp} > \text{ас-Glu} > \text{ас-Gly} > \text{ас-Asp-OMe}$ (рис. 4, *a—в*; табл. 1, 2). Характер змін в УФ спектрі m^7G в ДМСО при взаємодії з нейтральною та дисоційованою карбоксильними групами подібний до такого в спектрах m^7G та 7-етилгуанозину (e^7G) при підвищенні та зниженні значень рН (табл. 1).

Аналіз даних УФ спектроскопії та результатів дослідження за допомогою ІЧ спектроскопії і ЯМР [46—49] дозволяє запропонувати схеми взаємодії А та В форм m^7G з нейтральною та депротонованою формами карбоксильної групи відповідно (рис. 2, схеми *г* та *д*).

Відомо, що m^7G є основним продуктом алкілювання ДНК та РНК. При кислих значеннях рН може відбуватися послаблення глікозидного зв'язку та відщеплення m^7Gua , при лужних — розкриття імідазольного кільця, при нейтральних — неправильне спарювання m^7G з Т [56].

Входячи до складу транспортних та рибосомних РНК [57, 58], m^7G знаходиться в неспарених ділянках та відповідає за формування третинної структури, а також за взаємодію з ферментами. Фрагмент білка з 10 амінокислот, що специфічно зв'язуються з сар мРНК еукаріот (m^7GpppN), містить два залишки Asp — вірогідні ліганди m^7G [59].

3-Метилгуанін. УФ спектр m^3Gua (рис. 5, *a, б*) хоча формою нагадує спектр m^9Gua (короткохвильова основна смуга та довгохвильове плече), проте смуга 267 нм на 8 нм зміщена в бік довгих хвиль порівняно із смугою m^9Gua 259 нм, плече 277 нм зміщене в той же бік на 2 нм відносно плеча m^9Gua 275 нм (табл. 1).

Цілком виправдано (як і у випадку m^7Gua та $m_2^{1,7}Gua$) пов'язувати такі зміни УФ поглинання із впливом зміни гібридизації атома N3 при його метилюванні в m^3Gua , що призводить до зміни електронної будови внаслідок зміни спряження в хромофорі — пуриновому кільці.

Зміни в УФ спектрі m^3Gua незначні в присутності ас-Asp (рис. 5, *a*), що свідчить про появу здатності утворювати слабкий комплекс з нейтральною карбоксильною групою. Оскільки фрагмент O=C6-N1=C2-NH_2 m^3Gua подібний до фрагмента цитозину O=C2-N3=C6-NH_2 , логічно запропонувати схему взаємодії з нейтральною карбоксильною групою (рис. 2, схема *IV*), аналогічну до схеми взаємодії m^3Cyt з ас-Asp [46—49], хоча в останньому випадку спектральні прояви комплексоутворення в багато разів більші.

Зауважимо, що в кристалічному стані m^3Gua існує як таутомер N7H [74]. Квантовохімічні розрахунки m^3Gua [75] також надають перевагу тау-

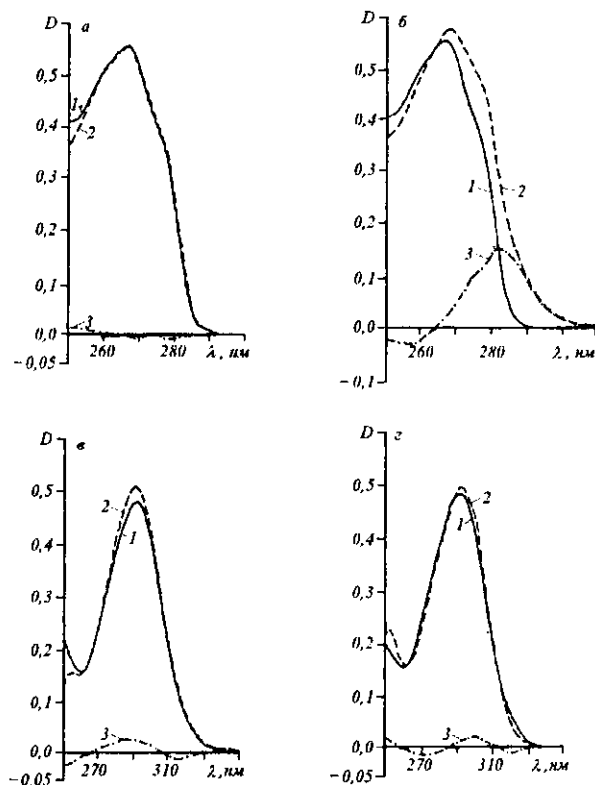


Рис. 5. УФ спектри поглинання в ДМСО: *a* — m^3Gua (1), його суміші з ас-Asp (2) і ДС (3); *б* — m^3Gua (1), його суміші з NaAc (2) і ДС (3); *в* — isoGua (1), його суміші з ас-Asp (2) і ДС (3); *г* — isoGua (1), його суміші з NaAc (2) і ДС (3). Концентрація основ 0,5 мМ, лігандів — 5 мМ

томерові N7H над таутомером N9H. Проте подібність УФ спектрів m^3Gua до спектрів структурно-зафіксованих таутомерів N9H (m^9Gua , $m_2^{2,9}Gua$, G, dG, m^1G , m^2G) та виразна його відмінність від структурно зафіксованих таутомерів N7H (m^7Gua , $m_2^{1,7}Gua$, m^7G) засвідчують стабілізацію m^3Gua у зневодненому ДМСО у вигляді таутомера N9H.

Присутність у розчині NaAc провокує значні зміни УФ спектра m^3Gua (рис. 5, *б*): батохромний зсув на 2 нм смуги 267 нм та значний гіперхромізм плеча 277 нм. Характер цих змін нашої думку, що дуже ймовірно є вклад депротонованого стану основи за рахунок перенесення імінопротона N9H на карбоксилат-іон. Дані ЯМР та ІЧ спектроскопії [46—49] також схиляють до виснов-

ку про перенесення протона в комплексі $m^3\text{Gua}$ з карбоксилат-іоном.

Відносно невелика кількість $m^3\text{Gua}$ утворюється під дією алкілюючих агентів на нуклеїнові кислоти та polyG при нейтральних значеннях рН [74]. В результаті такого метилювання може утворюватися неправильна пара $m^3\text{G}\cdot\text{G}$ за схемою, аналогічною до $\text{C}\cdot\text{G}$, в силу подібності вищезгаданих фрагментів Cyt та $m^3\text{Gua}$, а також є можливим відщеплення $m^3\text{Gua}$ від ДНК через сильне послаблення глікозидного зв'язку.

Ізогуанін. За даними [57], isoGua має протондонорні властивості більші, ніж у $m^9\text{Gua}$, $m^1\text{Gua}$ та $m^7\text{Gua}$ (табл. 1).

В УФ спектрі isoGua в ДМСО в робочому інтервалі, вибраному для реєстрації УФ спектрів серії гуанінових похідних, цілковито виписано інтенсивну смугу 293 нм (рис. 5, в), котрій у спектрі водного розчину isoGua при нейтральному значенні рН відповідає така сама смуга поглинання (табл. 1). У спектрі водного розчину спостерігається короткохвильова смуга 247 нм (табл. 1), а в ДМСО її максимум попадає за межу робочої області, і вона виписана неповністю, проте можна припустити, що її максимум не дуже відрізняється від 247 нм.

При додаванні ac-Asp спектр isoGua в ДМСО (рис. 5, в) змінюється так само, як і при переході до кислих значень рН у водних розчинах (табл. 1), що свідчить про його взаємодію з нейтральною карбоксильною групою. УФ спектр isoGua в суміші з NaAc (рис. 5, г) змінюється аналогічно зміні спектра водного розчину при переході до лужних

рН. Величина цих змін може свідчити про депротонування isoGua в комплексі з карбоксилат-іоном. Запропоновано схеми взаємодії isoGua з ac-Asp та NaAc (рис. 2, схеми є, ж відповідно).

Цікаво, що недавно [76] було продемонстровано здатність isoGua утворювати за присутності іонів цезію у розчині асоціати квінтетної природи, на відміну від відомих G-квартетів.

Щоб якоюсь мірою компенсувати відсутність експериментальних даних для незаміщеного Gua в ДМСО, ми розраховали енергетичні характеристики водневозв'язаних комплексів семи його прототропних таутомерів з карбоксилат-іоном у вакуумному наближенні напівемпіричним квантовохімічним методом MNDO/H (табл. 3, рис. 6). Виявилося, що енергетично найвигіднішим є комплекс, утворюваний рідкісним таутомером енол-N7H(3), котрий в енергетичній послідовності таутомерів посідає третє місце і перевищує енергію основного таутомеру кето-N9H(1) на 3,4 ккал/моль.

При цьому енергія комплексу карбоксилат-іону з основною таутомерною формою Gua перевищує на 8,7 ккал/моль енергію найбільш стабільного комплексу. Зауважимо, що із розрахованих трьох комплексів основного таутомеру (комплекси II, VIII, IX) енергетично найбільш вигідним є комплекс II, схема якого відповідає схемі взаємодії структурно зафіксованого таутомера $m^9\text{Gua}$ кето-N9H, встановленій експериментально (рис. 2, а).

Висновки. 1. Вперше за ідентичних експериментальних умов вивчено УФ спектри поглинання у зневодненому ДМСО низки метилпохідних Gua

Таблиця 3

Енергетичні характеристики (ккал/моль) комплексів карбоксилат-іона з прототропними таутомерами гуаніну, розраховані за допомогою методу MNDO/H

Таутомер	Відносна енергія	Комплекс	Відносна енергія комплексу	Енергія взаємодії
1	0	II	8,7	44,5
1	0	VIII	17,3	35,9
1	0	IX	17,6	35,6
2	2,6	X	18,8	37,1
3	3,4	I	0	56,6
3	7,4	V	13,4	53,1
4	13,3	VII	15,6	45,1
5	13,4	VI	13,7	53,0
6	13,4	IV	9,2	57,4
7	20,0	III	9,2	64,0

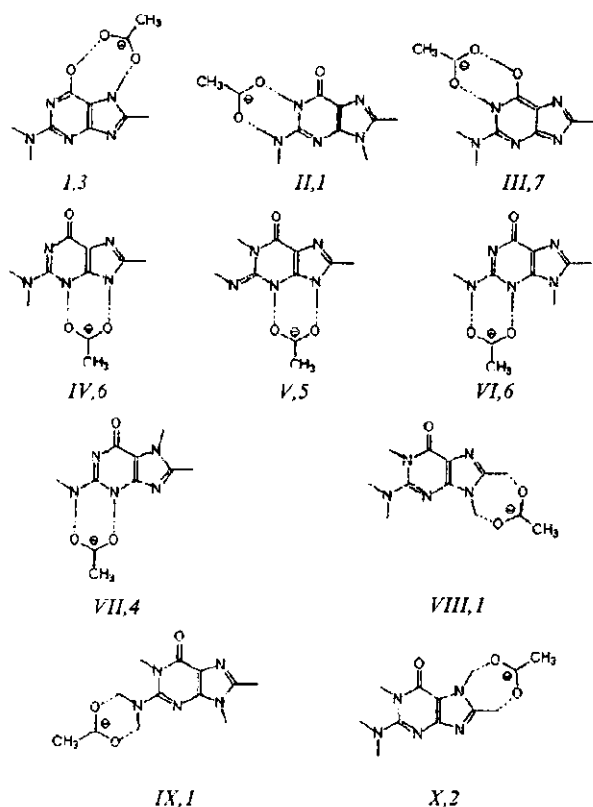


Рис. 6. Схеми взаємодії прототропних таутомерів Гуа з карбоксилат-іоном за даними методу MNDO/H. Нумерація таутомерів арабськими цифрами, а їхніх комплексів — римськими відповідає послідовностям зростання енергії

та його нуклеозидів, а також їхніх комплексів з депротонованою та нейтральною карбоксильною групою амінокислот. Встановлено, що, як правило, в УФ спектрах вказаних сполук характерною є присутність інтенсивної короткохвильової смуги та довгохвильового плеча, котре при заміщенні положення N7 пуринового кільця переходить у чітко виражену смугу майже однакової інтенсивності з короткохвильовою в спектрі m^7G , а у випадку m^7Gua та $m_2^{1,7}Gua$ — значно інтенсивнішу, ніж короткохвильова.

2. Зроблено висновок про те, що у зневодненому ДМСО m^1Gua та m^3Gua існують у вигляді таутомерів N9H, оскільки їхні УФ спектри подібні між собою та схожі на спектри таких структурно

зафіксованих таутомерів N9H, як m^9Gua , $m_2^{2,9}Gua$, G, dG, m^9G та m^1G . Про це ж свідчить чітко виражена відмінність між спектрами зазначених сполук та спектрами структурно зафіксованих таутомерів N7H — m^7Gua , $m_2^{1,7}Gua$ та m^7G .

3. Порівняння УФ спектрів $m_2^{1,7}Gua$ та m^7G , m^2G та $m_2^{2,9}Gua$, G та dG вказує на їхню чутливість не тільки до положення замісника в молекулі гуаніну, а й до його природи.

4. Відмінність між УФ спектрами нейтральних (рН 7) водних розчинів похідних Гуа та розчинів у зневодненому ДМСО свідчить про різний характер їхньої взаємодії з цими розчинниками.

5. Встановлено, що переважна більшість похідних Гуа взаємодіє лише з карбоксилат-іоном, як правило, утворюючи специфічний комплекс через два водневі зв'язки із залученням аміногрупи та іміногрупи NH, проте не утворює комплексів з нейтральною карбоксильною групою амінокислот. Навіть кардинальна перебудова електронної структури пуринового кільця при метилюванні Гуа в положенні N3 призводить до дуже слабкої взаємодії з нейтральною карбоксильною групою. І тільки m^7G та $isoGua$ здатні утворювати комплекси практично в рівній мірі як з депротонованою, так і з нейтральною карбоксильною групою.

6. За допомогою квантовомеханічних розрахунків методом MNDO/H у вакуумному наближенні показано, що енергетично найвигідніший комплекс з карбоксилат-іоном незаміщений Гуа утворює у формі рідкісного таутомеру енол-N7H, причому його енергія на 8,7 ккал/моль менша за енергію аналогічного комплексу його основної таутомерної форми кето-N9H.

Слід зазначити, що для детальної інтерпретації УФ спектрів похідних гуанінового ряду та їхньої трансформації під впливом комплексоутворення необхідними є квантовомеханічні розрахунки спектрів, виконання яких планується в найближчому майбутньому.

Автори щиро вдячні Д. М. Говорунові за участь в обговоренні результатів досліджень.

А. В. Степанюгин, И. Н. Коломиец, А. Л. Потягайло
С. А. Самойленко

Влияние метилирования и взаимодействия с карбоксильной группой аминокислот на УФ спектры пуриновых нуклеотидных оснований и нуклеозидов в диметилсульфоксиде. 2. Гуанин

Резюме

Изучены УФ спектры поглощения в безводном ДМСО производных гуанина m^1Gua , $m_2^{2,9}Gua$, m^3Gua , m^7Gua , $m_2^{1,7}Gua$, G, dG, m^2G , m^9G , m^1G , а также его аналога $isoGua$. Исследовано и интерпретировано изменение УФ поглощения производных Гуа в присутствии производных аминокислот, содержащих

нейтральную карбоксильную группу — *ac-Asp*, *ac-Glu*, *ac-Gly*, *ac-Asp-OMe* и *f-GlyONa* и *NaAc* с депротонированной карбоксильной группой. Показано, что *m Gua* и *t Gua* в безводном ДМСО существуют как таутомеры N9H. Установлено, что большая часть исследованных производных *Gua* взаимодействует только с депротонированной карбоксильной группой, за исключением *m G*, *isoGua* и *m' Gua*, способных образовывать комплексы также и с нейтральной карбоксильной группой. Рассчитаны энергетические характеристики прототропных таутомеров *Gua* и их комплексов с карбоксилат-ионом полуэмпирическим методом MNDO/H в вакуумном приближении.

A. V. Stepanyugin, I. M. Kolomiets, A. L. Potyahaylo, S. P. Samijlenko

Influence of methylation and interactions with amino acid carboxylic group on UV spectra of purine nucleotide bases and nucleosides in dimethylsulfoxide. 2. Guanine

Summary

UV absorption spectra of guanine derivatives m^9Gua , m_2^9Gua , $m Gua$, $m_2^{17}Gua$, *G*, *dG*, *m G*, *m' G*, *m' G* as well as of its analogue *isoGua* have been studied in anhydrous DMSO. The changes in UV absorption of the *Gua* derivatives in the presence of the amino acid derivatives with neutral carboxylic group — *ac-Asp*, *ac-Glu*, *ac-Gly*, *ac-Asp-OMe* and *f-GlyONa* and *NaAc* with deprotonated carboxylic groups have been investigated and interpreted. It has been shown that *m1Gua* and *m' Gua* exist as the N9H tautomers in anhydrous DMSO. It has been established that most part of the *Gua* derivatives interact only with deprotonated carboxylic group, excluding *m' G*, *isoGua* and *m' Gua* which are capable to form the complexes with neutral carboxylic group as well. Energetic characteristics of the *Gua* prototropic tautomers and their complexes with carboxylate ion were calculated by the semiempirical MNDO/H method at vacuum approximation.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Степанюгін А. В., Коломієць І. М., Самійленко С. П. Вплив метилювання та взаємодії з карбоксильною групою амінокислот на УФ спектри пуринових нуклеотидних основ та нуклеозидів у диметилсульфоксиді. 1. Аденин // Біополімери і клітина.—1999.—15, № 5.—С. 422—431.
2. Нечаев А. П., Еременко Т. В. Органическая химия.—М.: Высш. шк., 1985.—463 с.
3. Гетероциклические соединения / Под ред. Р. Эльдерфильд.—М.: Мир, 1969.—Т. 8.—363 с.
4. Mishra P. C. Vibrational structures and intensity distributions in the electronic absorption spectra of nucleic acid bases: evidence for non-planarity of guanine // *J. Mol. Struct.*—1986.—144, N 2.—P. 309—317.
5. Delabar J.-M., Majoube M. Infrared and Raman spectroscopic study of ^{15}N and D-substituted guanines // *Spectrochim. acta.*—1978.—34A, N 1.—P. 129—140.
6. Szczepaniak K., Szczesniak M. Matrix isolation infrared studies of nucleic acid constituents. Pt 4. Guanine and 9-methyl-guanine monomers and their keto-enol tautomerism // *J. Mol. Struct.*—1987.—156, N 1/2.—P. 29—42.
7. Scott J. E., Sinsheimer R. L., Loofbrow J. R. Factors involved in the sharpening of the Ultraviolet absorption spectrum of guanine at reduced temperature // *J. Amer. Chem. Soc.*—1952.—74, N 1.—P. 275—277.
8. Гуменюк В. А. Кристаллизация гуанина под влиянием воды: спектры поглощения в инфракрасном и ультрафиолетовом диапазонах // *Биофизика.*—1980.—25, № 5.—С. 793—795.
9. Горбачевський І. О кристалізованім ксантині і гуаніні //

36. математичноприродописної лікарської секції НТШ.—1897.—I, № 1.—С. 1—19.
10. Лесник Е. А., Кочкина И. М., Тихоненко А. С., Варшавский Я. М. Структура полирибогуаниловой кислоты в растворе // *Молекуляр. биология*—1980.—14, № 4.—С. 820—829.
11. Сорокин В. А. Изучение взаимодействия ионов двухвалентной меди с полирибогуаниловой и полирибоуридиловой кислотами // *Молекуляр. биология*—1988.—22, № 6.—С. 1590—1598.
12. Благий Ю. Т., Галкин В. Л., Гладченко Г. О., Корнилова С. В., Сорокин В. А., Шкорбатов А. Г. Металлокомплексы нуклеиновых кислот в растворе / Под ред. В. Я. Малеева.—Киев: Наук. думка, 1991.—270 с.
13. Abraham R. J., Smith P. E. Charge calculations in molecular mechanics 6: the calculation of partial atomic charges in nuclear acid bases and the electronic contribution to DNA base pairing // *Nucl. Acids Res.*—1988.—16, N 6.—P. 2639—2656.
14. Pullman B., Perahia D., Cauchy D. The molecular electrostatic potential of the B-DNA helix. VI. The regions of the base pairs in poly(dGidC) and poly(dAidT) // *Nucl. Acids. Res.*—1979.—6, N 12.—P. 3821—3829.
15. Greco F., Liguori A., Sindona G., Uccella N. Gas-phase proton affinity of deoxyribonucleosides and related nucleobases by past atom bombardment tandem mass spectrometry // *J. Amer. Chem. Soc.*—1990.—112, N 25.—P. 9092—9096.
16. Говорун Д. М., Кондратюк І. В. Газофазні кислотно-лужні властивості канонічних нуклеотидних основ // *Доп. НАН України.*—1998.—№ 1.—С. 207—212.
17. Говорун Д. М., Міщук Я. Р., Кондратюк І. В. Про квантовохімічну природу стереохімічної нежорсткості канонічних нуклеотидних основ // *Биополимеры и клетка.*—1996.—12, № 5.—С. 5—12.
18. Williams L. D., Williams N. G., Shaw B. R. In model C:G base pair, one amino group rotates and the other does not // *J. Amer. Chem. Soc.*—1990.—112, N 2.—P. 829—833.
19. Говорун Д. М., Міщук Я. Р. Енергетика міжмолекулярних водневих зв'язків у кристалах та співкристалізатах основ ДНК: дослідження методом спектральної калориметрії // *Укр. фіз. журн.*—1997.—42, № 8.—С. 933—938.
20. Бородавкін А. В., Будовський Э. И., Морозов Ю. В., Савин Ф. А., Симукова Н. А. Электронная структура УФ-спектров поглощения и реакционная способность компонентов нуклеиновых кислот // *Итоги науки и техники / Под ред. М. В. Волькенштейн.*—М.: ВИНТИ, 1977.—227 с. (Молекуляр. биология, Т. 14).
21. Морозов Ю. В., Бажулина Н. П. Электронное строение, спектроскопия и реакционная способность молекул. Нуклеиновые основания, витамины B₆ и их аналоги / Под ред. М. В. Волькенштейн.—М.: Наука, 1989.—288 с.
22. Elcock A. H., Richards W. G. Relative hydrations free energies of nucleic acid bases // *J. Amer. Chem. Soc.*—1993.—115, N 7.—P. 7930—7931.
23. Tselepi-Kaluoli E., Katsaros N. Ruthenium (III) ion complex with nucleic acid bases and nucleosides // *J. Inorg. Chem.*—1988.—34, N 1.—P. 63—74.
24. Разношиский А. И., Щербо С. Н., Южаков В. И. Электронная структура и спектрально-люминесцентные свойства некоторых метилированных пуринов // *Журн. физ. химии.*—1990.—64, № 5.—С. 1266—1272.
25. Серебряный А. М., Андриевский Г. В., Беккер А. А., Сибельдина Л. А., Шарова О. Л. Строение продуктов модификации нуклеотидов и ДНК этиленамином и тиотэфом // *Биоорг. химия.*—1987.—13, № 6.—С. 786—792.
26. Цыганенко Н. М. Фотопревращение компонентов нуклеи-

- новых кислот под действием излучения в вакуумной ультрафиолетовой области спектра: Автореф. дис. ... канд. физ.-мат. наук.—Ленинград: ЛГУ, 1987.—16 с.
27. Sheina G. G., Radchenko E. D., Stepanian S. G., Blagoi Yu. P. Prototropic tautomerism of nucleic acid purine bases // *Stud. biophys.*—1986.—114, N 1—3.—P. 123—131
 28. Sheina G. G., Radchenko E. D., Stepanian S. G., Blagoi Yu. P. IR spectra of guanine and hypoxanthine isolated molecules // *J. Mol. Struct.*—1987.—158, N 2.—P. 275—292.
 29. Szczepaniak K., Szczesniak M., Person W. Infrared studies and effect of ultraviolet irradiation on the tautomers of 9-methylguanine isolated in argon matrix // *Chem. Phys. Letts.*—1988.—153, N 1.—P. 39—44.
 30. Leszczynski J. The potential energy surface of guanine is not flat: an *ab initio* study with large basis sets and higher order electron correlation contributions // *J. Phys. Chem. A.*—1998.—102, N 13.—P. 2357—2362.
 31. Leszczynski J. Guanine, 6-thioguanine and 6-selenoguanine: *ab initio* HF/DZP and MP2/DZP comparative study // *J. Mol. Struct. (Theochem)*.—1994.—311, N 1.—P. 37—44.
 32. Latajka Z., Person W. B., Morokuma K. An *ab initio* calculation of the infrared spectrum and tautomerism of guanine // *J. Mol. Struct. (Theochem)*.—1986.—135, N 2.—P. 253—266.
 33. Leszczynski J. Tautomers of 6-thioguanine: structures and properties // *J. Phys. Chem.*—1993.—97, N 4.—P. 3520—3524.
 34. Florian J., Leszczynski J., Scheiner S. *Ab initio* study of the structure of guanine-cytosine base pair conformers in gas phase and polar solvents // *Mol. Phys.*—1995.—84, N 3.—P. 469—480.
 35. Kwiatkowski J. S., Person W. B. Tautomerism of nucleic acid bases revisited: from non-interacting to interacting bases // *Theor. Biochem. and Mol. Biophys.* / Eds D. L. Beveridge, L. Lavery.—New York: Adenine, 1990.—P. 153—171.
 36. Colominas C., Luque F. J., Orozko M. Tautomerism and protonation of guanine and cytosine. Implications in the formation of hydrogen-bonded complexes // *J. Amer. Chem. Soc.*—1996.—118, N 29.—P. 6811—6821.
 37. Маслова Р. Н., Лесник Е. А., Варшавский Я. М. Кинетика и механизм $^3\text{H} \rightarrow ^1\text{H}$ обмена в С(8)Н группах производных пурина // *Молекуляр. биология.*—1975.—9, № 2.—С. 10—320.
 38. Boerth D. W., Harding F. X., Jr. Theoretical investigation of acidity and isotope exchange in purine nucleotide cations // *J. Amer. Chem. Soc.*—1985.—107, N 10.—P. 2952—2969.
 39. Fujita S., Takenaka A., Sasada Y. A model for interactions of amino acid side chains with Watson-Crick base pair of guanine and cytosine. Crystal structures of 9-(2-carboxyethyl) guanine and its crystalline complex with 1-methylcytosine // *Bull. Chem. Soc. Jap.*—1984.—57, N 7.—P. 1707—1712.
 40. Lancelot G. Hydrogen bonding of amino acid side chains to nucleic acid bases // *Biochimie.*—1977.—59, N 7.—P. 587—596.
 41. Lancelot G. Hydrogen bonding between nucleic acid bases and carboxylic acids // *J. Amer. Chem. Soc.*—1977.—99, N 21.—P. 7037—7042.
 42. 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.—14, N 11.—P. 4872—4875.
 43. Lancelot G., Mayer R., Helene C. Models of interactions between nucleic acids and proteins. Hydrogen bonding of arginine with nucleic acid bases, phosphate groups and carboxylic acids // *Biochim. et biophys. acta.*—1979.—564.—P. 181—190.
 44. Брусков В. И., Бушуев В. Н. Исследование методом протонного магнитного резонанса комплексообразования между нуклеозидами и соединениями, моделирующими аминокислотные остатки белков, в диметилсульфоксиде // *Биофизика.*—1977.—22, № 1.—С. 26—31.
 45. Lancelot G., Mayer R. The specific interaction of guanine with carboxylate ions in water // *FEBS Lett.*—1981.—130, N 1.—P. 7—11.
 46. Zheltovsky N. V., Samoilenko S. A., Kolomiets I. N., Kondratyuk I. V., Gubaidullin M. I. Some structural aspects of protein-nucleic acid recognition point mechanisms involving amino acid carboxylic group // *J. Mol. Struct.*—1989.—214.—P. 15—26.
 47. Kolomiets I. N., Kondratyuk I. V., Stepanyugin A. V., Samoilenko S. A., Zheltovsky N. V. Influence of methylation of nucleic acid purine bases on their interaction with amino acid through the carboxylic group // *J. Mol. Struct.*—1991.—250.—P. 1—11.
 48. Zheltovsky N. V., Samoilenko S. A., Kondratyuk I. V., Kolomiets I. N., Stepanyugin A. V. Recognition of purine bases and nucleosides by the amino acid carboxylic group // *J. Mol. Struct.*—1995.—344.—P. 53—62.
 49. Желтовский Н. В., Самоilenко С. А., Коломиец И. Н., Кондратьюк И. В. Взаимодействие нуклеотидных оснований с карбоксильной группой аминокислот в ДМСО: модель точечных белково-нуклеиновых контактов // *Докл. АН УССР. Сер. Б.*, 1988.—№ 8.—С. 68—71.
 50. Samijlenko S. P., Kolomiets I. M., Kondratyuk I. V., Stepanyugin A. V. Model consideration on physico-chemical nature of protein-nucleic acid contacts through amino acid carboxylic groups: spectroscopic data // *Biopolimery i kletka.*—1998.—14, N 1.—P. 47—52
 51. Зарудная М. И., Говорун Д. Н. Самоассоциаты гомополимерных трактов клеточных РНК: физиологические механизмы образования и функционирования // *Phys. Alive.*—1999.—7, № 2.—P. 38—52.
 52. Zimmerman S. B., Cohen G. H., Davies D. R. X-ray fiber diffraction and model-building study of polyguanylic acid // *J. Mol. Biol.*—1975.—92, N 2.—P. 181—191.
 53. Williamson J. R., Raghuraman M. K., Cech T. R. Monovalent cation-induced structure of telomeric DNA: the G-quartet model // *Cell.*—1989.—59, N 5.—P. 871—880.
 54. Souleil C., Panijel J. Immunochemistry of polyribonucleotides. Study of polyriboinosinic and polyriboquanylic acids // *Biochemistry.*—1968.—7, N 1.—P. 7—13.
 55. Walmsley I. A., Barnett J. F. A new model for the K^+ -induced macromolecular structure of guanosine 5i-monophosphate in solution // *Biochemistry.*—1999.—38, N 42.—P. 14063—14068.
 56. Lawley P. D., Brookes P. Further studies on the alkylation of nucleic acids and their constituent nucleotides // *Biochem. J.*—1963.—89, N 1.—P. 127—138.
 57. *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology: Nucleic Acids* / Ed. G. D. Fasman.—New York: CRC press, 1986.—Vol. I.—637 p.
 58. *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology: Nucleic Acids* / Ed. G. D. Fasman.—New York: CRC press, 1986.—Vol. II.—923 p.
 59. Lejbkowitz F., Goyer C., Darveau A., Neron S., Lemieux R., Sonnenberg N. A fraction of the mRNA 5 cap-binding protein, eukaryotic initiation factor 4E, localizes to the nucleus // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1992.—89, N 20.—P. 9612—9616.
 60. Michelson A. M., Pochon F. Polynucleotide analogues. VII. Methylation of polynucleotides // *Biochim. et biophys. acta.*—1966.—114.—P. 469—480.
 61. Pochon F., Michelson A. M. Polynucleotide analogues. XI.

- Poly N¹-methylguanylic acid and other methylated polynucleotides // *Biochim. et biophys. acta.*—1967.—145.—P. 321—327.
62. Nowak M. J., Lapinski L. An infrared matrix isolation study of tautomerism in purine and adenine // *Chem. Phys. Letts.*—1989.—157, N 12.—P. 14—18.
63. Takenaka A., Sasada Yo. Studies on protein-nucleic acid interaction by model crystals // *J. Crystallogr. Soc. Jap.*—1985.—27.—P. 324—336.
64. Kamiichi K., Doi M., Nabae M. Structural studies of the interaction between indole derivatives and biologically important aromatic compounds. Pt 19. Effect of base methylation on the ring-stacking interaction between tryptophan and guanine derivatives: a nuclear magnetic resonance investigation // *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*—1987.—11.—P. 1739—1745.
65. Samijlenko S. P., Kondratyuk I. V. NMR investigation on the role of glycosylic OH groups in complexes modelling point protein-nucleic acid contacts // *Spectroscopy of Biological Molecules: Modern Trends. Annex / Eds P. Carmona, R. Navarro, A. Hernanz.*—Madrid: UNED, 1997.—P. 67—68.
66. Arni R., Heinemann U., Tokuoka R., Saenger W. Three-dimensional structure of the ribonuclease T·2'-GMP complex at 1,9 Å resolution // *J. Biol. Chem.*—1988.—263, N 30.—P. 15358—15368.
67. Kan L. S., Schweighardt F. K., Kao S., Li N. C. Penicillin interaction with Guo // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1972.—46, N 1.—P. 20—27.
68. Perona J. J., Swanson P. N., Rould M. A., Steitz T. A., Soll D. Structural basis for misaminoacylation by mutant *E. coli* glutamyl-tRNA synthetase enzymes // *Science.*—1989.—246.—P. 1152—1154.
69. Namba K., Pattanayek R., Stubbs G. Visualization of protein-nucleic acid interactions in a virus. Refined structure of intact tobacco mosaic virus at 2,9 Å resolution by X-ray fiber diffraction // *J. Mol. Biol.*—1989.—208.—P. 307—325.
70. Chanton J. F., Sarocchi M.-T., Guschlbauer W. Physico-chemical properties of nucleosides. 4. Gel formation by guanosine and its analogues // *Biochimie.*—1971.—53.—P. 347—354.
71. Ishida T., Doi M., Ueda H., Inoue M., Scheldrick G. M. Specific ring stacking interaction of the tryptophan-7-methylguanine system: comparative crystallographic studies of indole derivatives-7-methylguanine base, nucleoside, and nucleotide complexes // *J. Amer. Chem. Soc.*—1988.—110, N 7.—P. 2286—2294.
72. Boiteux S., Belleney J., Rogues B. P., Laval J. Two rotameric forms of open ring 7-methylguanine are present in alkylated polynucleotides // *Nucl. Acids Res.*—1984.—12, N 13.—P. 5429—5439.
73. Barbarella G., Bertoluzza A., Tugnoli V. Nitrogen-15 NMR characterization of the neutral form of 7-methylguanine // *Nucl. Acids Res.*—1988.—16, N 14.—P. 864.
74. Abola J. E., Abraham D. J., Townsend L. B. The crystal and molecular structure of 3-methylguanine, a potentially miscoding base // *Tetrahedron Letters.*—1976.—N 39.—P. 3483—3486.
75. Norinder V. A theoretical reinvestigation of the nucleic bases adenine, guanine, cytosine, thymine and uracil using AM1 // *J. Mol. Struct. (Theochem).*—1987.—151.—P. 259—269.
76. Chaput J. C., Switzer C. A DNA pentaplex incorporation nucleobase quintets // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1999.—96, N 19.—P. 10614—10619.

УДК 577.33.336:577.323.36
Надійшла до редакції 19.04.2000