

KONFORMAČNÍ VLASTNOSTI ŘETĚZCŮ DNA OBSAHUJÍCÍCH GUANIN A ADENIN

JAROSLAV KYPR a MICHAELA VORLÍČKOVÁ

Biofyzikální ústav, Akademie věd České republiky, Královopolská 135, 612 65 Brno, e-mail: mifi@ibp.cz

Došlo dne 4.IX. 1997

Obsah

1. Úvod
2. Řetězce DNA bohaté na guanin a adenin asociují
3. Nekanonické páry GA v DNA a jejich reparace
4. Asociáty dvou řetězců $(GA)_n$
5. $(GA)_n$ při kyselém pH
6. Vlásoky
7. Expandující motiv $(GAA)_n$ a Friedreichova ataxie
8. Centromery
9. Triplexy $(G,A)_n$
10. Další motivy $(G,A)_n$ a jejich biologický význam
11. Závěr

1. Úvod

Molekuly kyseliny deoxyribonukleové (DNA) obsahují čtyři kanonické báze. Dvě z nich, adenin a guanin, jsou odvozeny od purinu a druhé dvě, cytosin a thymin, od pyrimidinu. V důsledku párování G s C a A s T je v DNA purinových bází stejný počet jako bází pyrimidinových. Rozložení purinových a pyrimidinových bází mezi komplementární řetězce DNA však už stejnoměrné být nemusí a také v mnoha případech není. V genomech různých organismů včetně člověka se nacházejí¹, zejména před geny², v překvapivě hojném počtu dlouhé úseky, kde se na jednom řetězci shlukují báze pyrimidinové a na druhém komplementární báze purinové. I geny jsou podobně asymetrické, přičemž kódující informace je téměř vždy uložena na řetězci bohatém na purinové báze³. Shluky purinových bází mohou vytvářet několik různých sekvenčních motivů, z nichž nejznámější jsou shluky guaninů tvořící⁴ tetraplexovou DNA. V tomto článku se zaměříme zejména na

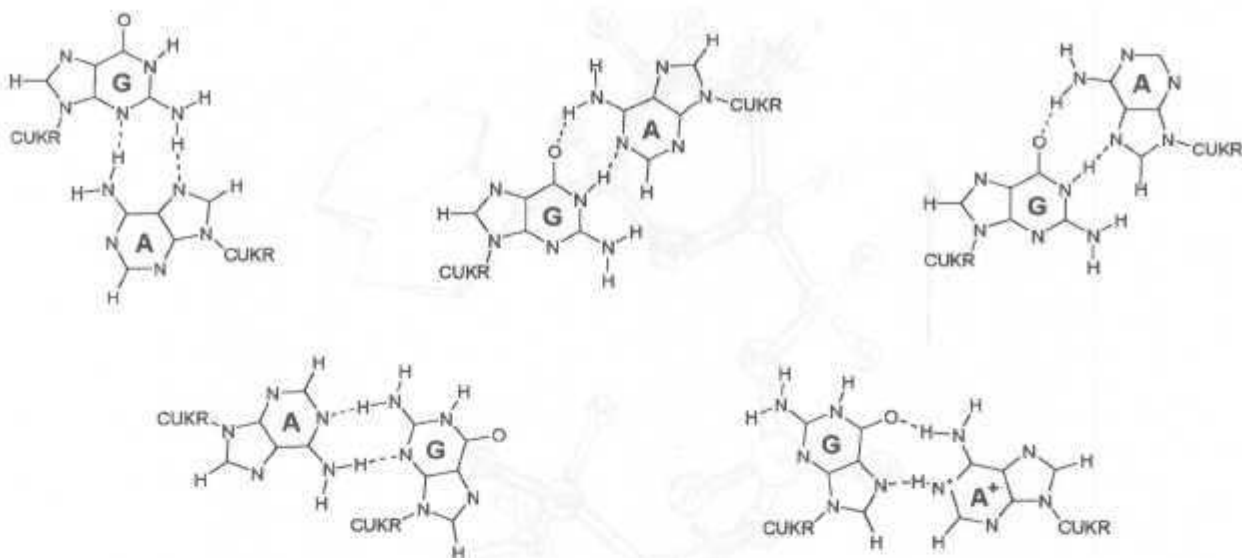
motiv, ve kterém se guanin pravidelně střídá s adeninem, protože řetězce DNA obsahující tento a příbuzné motivy mají pozoruhodné vlastnosti.

2. Řetězce DNA bohaté na guanin a adenin asociují

Pokud by Watsonova a Crickova pravidla párování bází platila absolutně, pak by spolu navzájem mohly asociovat pouze řetězce obsahující autokomplementární posloupnosti bází, např. CGCGAATTCGCG. Tato pravidla však ani zdaleka neplatí tak absolutně, jak se traduje v učebnicích. To dokazují např. pozorování prováděná již asi před dvaceti lety⁵. Ta vedla k závěru, že jednořetězcové polynukleotidy obsahující pouze purinové báze, z nichž je alespoň jedna třetina guanin, asociují do uspořádané sekundární struktury, jejíž stabilita roste se zastoupením guaninu. Přitom klíčovou roli v její stabilitě hraje⁵ aminoskupina adeninu, zatímco aminoskupina guaninu je v tomto ohledu méně důležitá. Na základě již tehdy známé asociační tendence guaninu bylo navrženo⁵, že tato sekundární struktura je čtyřřetězcová, i když ani duplex nebyl vyloučen jako možné vysvětlení tehdy známých dat. RNA obsahující stejnou sekvenci bází tuto strukturu netvoří⁵.

3. Nekanonické páry GA v DNA a jejich reparace

Následně bylo zjištěno⁶, že oligodeoxyribonukleotidy bohaté na purinové báze tvoří v roztoku neobvyklé duplexy, v nichž se v hojně míře uplatňují páry GA. Tyto páry byly potom studovány⁷ různými metodami a v různých oligonukleotidech. Výsledky těchto studií lze shrnout do čtyř hlavních bodů: 1) Párů GA existuje několik typů. Liší se způsobem párování pomocí vodíkových vazeb (obr. 1) a orientací bází vůči připojenému cukernému zbytku, která může být *syn* i *anti* (obr. 2). 2) Párování G s A je v důsledku protonizace A závislé na pH. Tím se ještě dále rozšiřuje spektrum možností jejich párování (obr. 1). 3) Způsob párování je výrazně závislý na okolních bázích v DNA.



Obr. 1. Možné varianty párování G s A a G s protonizovaným A⁺



Obr. 2. Schematické znázornění orientace (vlevo) *syn* a (vpravo) *anti* kolem glykosidické vazby, která spojuje cukernou a heterocyklickou složku nukleosidu. Pro orientaci *anti*, která je zejména u pyrimidinových nukleosidů stabilnější, je charakteristické, že cukerná složka je vytočena vůči heterocyklické bázi na opačnou stranu. V poloze *syn* jsou cukri báze vytočeny na stejnou stranu

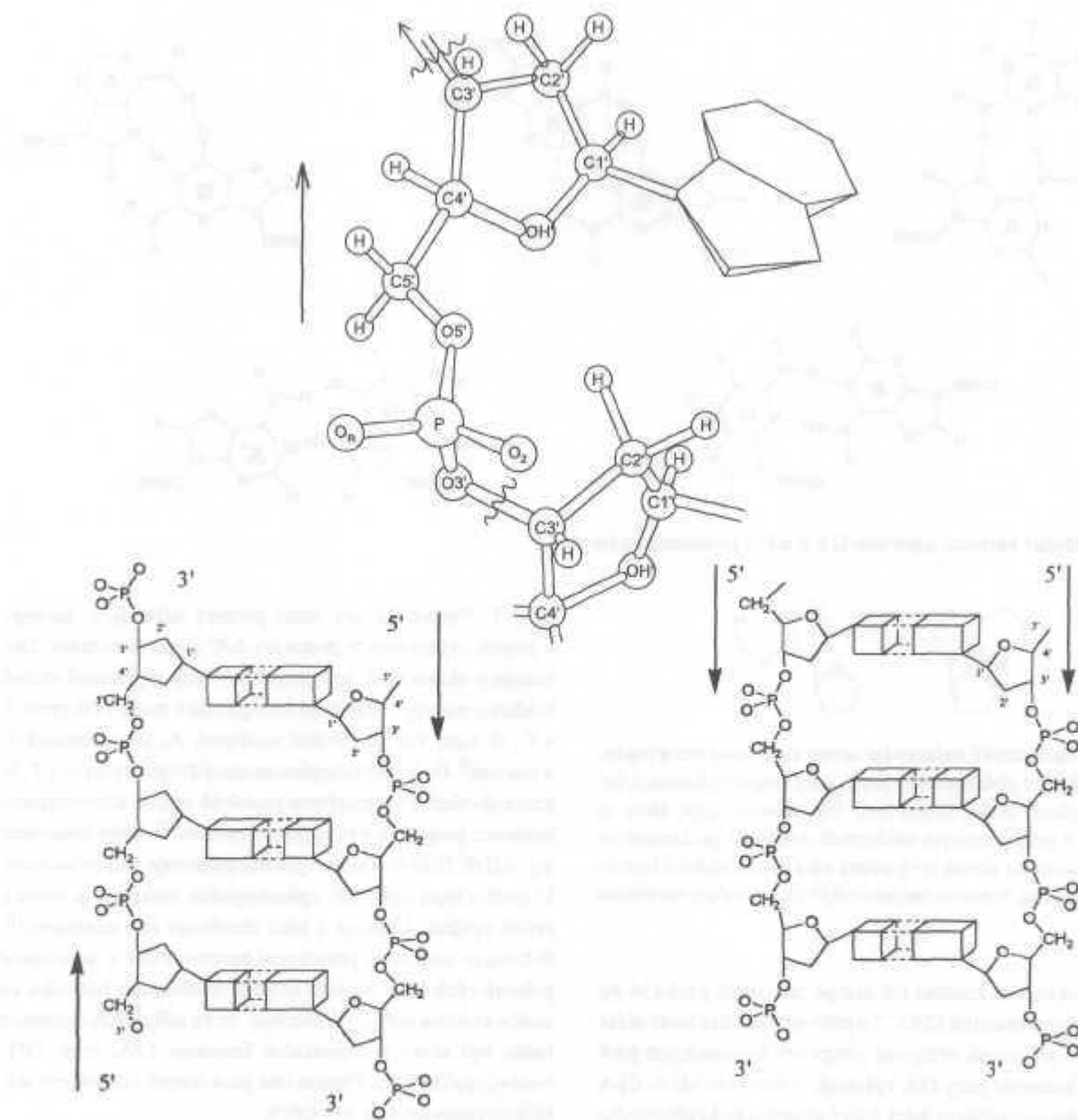
Tento sekvenční kontext též určuje příspěvek párů GA ke konformační stabilitě DNA. Za příhodných okolností může být tento příspěvek větší než příspěvek kanonických párů AT. 4) Sousední páry GA vykazují v dinukleotidech GpA meziřetězcový překryv bází, který přispívá ke konformační stabilitě DNA. V tomto dinukleotidu je DNA enormně zavnutá a v té souvislosti nabývá jeho fosfodiesterická vazba neobvyklé konformace⁷. DNA jako celek však zachovává klasickou konformaci typu B.

Snadná možnost koexistence s kanonickými páry v B-DNA a srovnatelná stabilita s páry AT činí z párů AG potenciální zdroj mutací. Vznikne-li v důsledku replikace na místě páru AT pár AG, pak při další replikaci může vzniknout pár GC a na místě původního A potom najdeme C. Pár AG může vzniknout i na místě původního páru GC, což následně vede k možnosti záměny původního G za T. Pro obranu vůči tomuto jevu má⁸ např. *E. coli* protein

Mut T. Přesto ale ani tento protein nebo jeho analogy v jiných organismech mutacím A/C zcela nezabrání. Dokazuje to skutečnost, že v genomech řady organismů včetně lidského existuje vzájemná kompenzace mezi výskytem A a C, tj. tam, kde je lokálně nadbytek A, je nedostatek C a naopak⁹. Podobně komplementární dvojici tvoří G a T. Je pozoruhodné, že v extrémní podobně se tato kompenzační tendence projevuje v genomech lentivirů¹⁰, které způsobují mj. AIDS. U nich adenin výrazně dominuje nad cytosinem. U jiného typu retrovirů způsobujících leukémii je situace právě opačná. Cytosin u nich dominuje nad adeninem¹⁰. K tomuto totálnímu převrácení nerovnováhy v zastoupení jednotlivých bází muselo dojít z evolučního hlediska za velice krátkou dobu. To ukazuje, že za některých okolností může být tento kompenzační fenomén C/A, resp. G/T, neobyčejně účinný. Přitom oba jsou patrně způsobeny stabilitou párování G s A v DNA.

4. Asociáty dvou řetězců (G,A)_n

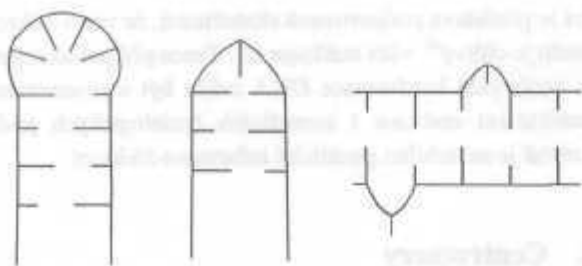
Páry GA se mohou vyskytovat ve dvoušroubovici DNA různých oligodeoxyribonukleotidů, kde dominují klasické páry GC a AT. Tuto skutečnost lze chápat i tak, že purinové báze nebo jejich páry stabilizují duplexy DNA. V souladu s touto představou je zjištění¹¹, že oligodeoxyribonukleotidy typu (GA)_n neobsahují ani jedinou pyrimidinovou bázi a přesto asociují do duplexů. V nich je ale, přinejmenším v některých případech, vzájemná orientace řetězců paralel-



Obr. 3. Cukrfosfátová páteř nukleových kyselin je z formálního hlediska tvořena lineárním řetězcem atomů ...[OPOCCCC]OPO..., který je stejný, čteme-li pořadí jeho atomů zepředu či zezadu. Nemá tedy směrový charakter. Ten mu dodává až cukerný kruh, který je k němu připojen asymetricky. Konvencí je stanoven začátek řetězce atomem uhlíku C 5', který není součástí cukerného kruhu. Komplementární řetězce jsou v nativní DNA antiparalelní (vlevo dole), v některých situacích může být orientace řetězců i paralelní (vpravo dole)

ní (obr. 3) a nikoli antiparalelní, jak je tomu v molekulách DNA, které jsme dosud znali. Pro paralelní duplex tvořený $(GA)_n$ byl navržen¹¹ model, v němž se páruje G s G a A s A. Tento duplex je stabilní v širokém rozmezí hodnot pH počínaje 4 a konče 9. V souladu s tímto pozorováním je navržený model slučitelný s protonizací A, tuto protonizaci

ale pro svou stabilitu nevyžaduje. Navržen byl také levotočivý model¹², který je mj. založen na skutečnosti, že duplex $(GA)_n$ poskytuje negativní pás při 190 nm ve spektru cirkulárního dichroismu, což je charakteristické pro levotočivou dvoušroubovici Z-DNA. Paralelní orientaci řetězců vykazují¹³⁻¹⁵ i duplexy tvořené oligodeoxyribonukleotidy



Obr. 4. Schematické znázornění (vlevo) vlásenky, složené ze stonku a smyčky, dále (uprostřed) vlásenky, jejíž smyčka je tvořena jedinou bází a (vpravo) duplexu obsahujícího vystrčené báze

(CGATCG), (TCGATCGA) a (CGATCGATCG). Tyto duplexy jsou ale stabilní jen při nízkém pH (3,8–4,4) a obsahují páry C⁺C, GG, AA a TT. I při neutrálním pH však tvoří¹⁶ paralelní duplex sekvence (GGA)_n. Je-li ale zahrnutím do monomolekulární vlásenky (obr. 4) vynucena¹⁷ antiparalelní orientace, tvoří úsek (GA)_n duplex. Podobně vynucené antiparalelní duplexy tvoří¹⁸ také sekvence (GGA)_n a (GGGA)_n. Ke stabilitě antiparalelního duplexu (GGA)_n přispívají páry GA, které však zcela chybějí v antiparalelním duplexu (GGGA)_n. V něm se nacházejí pouze páry GG a AA. To demonstruje rozsáhlou konformační variability úseků (G, A)_n, na které se kromě mnoha možností párování podílí i skutečnost, že zbytky jak A tak G jsou skoro stejně stabilní v orientaci *syn* a *anti* kolem glykosidické vazby. V přítomnosti milimolárních koncentrací zinečnatých kationtů, nikoli však např. hořečnatých, tvoří (GA)_n další typ antiparalelního duplexu¹⁹. Tento duplex je zajímavý tím, že je asi purinovou součástí triplexu DNA tvořeného²⁰ dvěma řetězci (GA)_n a jedním řetězcem (TC)_n. Ten se totiž tvoří specificky v přítomnosti podobných koncentrací zinku při neutrálním pH. Nejnovější zveřejněná studie tvrdí²¹, že duplex, který tvoří 20-mer (AG)₁₀, je ve skutečnosti asociát dvou k sobě přiložených vlásenek. V tomto asociátu jsou vlásenky navzájem vázány tetradami guaninu, mezi než jsou adeninové zbytky pouze interkalovány, aniž by se mezi sebou nebo ke guaninu vázaly jakoukoli vodíkovou vazbou²². Konformační rovnováhy byly již dříve studovány u (GA)₂₀ a bylo zjištěno²³, že tento oligonukleotid v celém rozmezí pH mezi 4,6 a 8,3 koexistuje v intramolekulární vlásence a biomolekulárním duplexu.

5. (GA)_n při kyselém pH

Adenin se při nízkém pH protonizuje. V důsledku této protonizace vznikají v (GA)_n páry AA⁺ a GG, které oba

preferují²⁴ paralelní orientaci řetězců v duplexu. Při dalším okyselování se protonizují²⁵ všechny adeniny v (GA)_n, ale ani tato protonizace nevede k jeho denaturaci. Oligonukleotid se sice stane jednořetězcovým, ale je i nadále uspořádán do pravidelné sekundární struktury²⁶. Ta se podobá α-šroubovici. Postrádá vertikální vrstvení bází, protože adeninové zbytky jsou v ní téměř paralelní s helikální osou²⁷. Je stabilizována²⁸ iontovými vazbami mezi pozitivně nabitým adeninem a fosfátovými skupinami oligonukleotidového řetězce. Je též velice termostabilní a taje kooperativně přesto, že guaninové zbytky jsou vysunuty vně šroubovice²⁸. Tato šroubovice je asi levotočivá²⁸.

6. Vlásenky

Oktamer (GCGAAAGC) a dokonce i heptamer (GCGAAGC) tvoří extrémně stabilní monomolekulární vlásenky, v jejichž stonku se nacházejí pouze dva páry GC, přičemž GAAA nebo GAA tvoří jejich smyčku²⁹. Tento oktamer a heptamer se často vyskytují v replikačních počátcích a promotorech transkripce. Analýza všech 64 možných heptamerů (GCNNNGC), kde N je libovolná báze, ukázala²⁹, že jen čtyři vykazují onu pozoruhodnou termostabilitu. Všechny čtyři přitom obsahují na první poloze centrálního tripletu guanin a na třetí adenin. Na druhé poloze se objevily postupně všechny čtyři báze. Na ni tedy termostabilita vlásenky skoro nezávisí. Naopak klíčově závisí na interakci G s A. Tato dvojice zřejmě ideálně napojuje smyčku vlásenky na její stonk. Není bez zajímavosti, že v RNA se páry GA vyskytují v hojně míře³⁰. Zde tvoří kontaktní místa pro terciární interakce³¹.

Struktura (GCGAAGC) demonstruje, že jediný nukleotidový zbytek může postačovat k tomu, aby se řetězec oligonukleotidu stočil do protisměru, kde vytvoří duplexový stonk vlásenky (obr. 4). Smyčka vlásenky tvořená jediným nukleotidem se tak podobá strukturnímu prvku, který se vyskytuje u RNA daleko častěji než u DNA a který budeme nazývat podle anglického „bulge“ vystrčená báze (obr. 4). Můžeme se ptát, co se stane, když triplet GNA nejsou připojeny ke stonku tvořenému páry GC, ale jsou součástí jiného sekvenčního nebo strukturního kontextu. Tato otázka byla již řešena v následujících ohledech. Vlasečky tvořené hexamery CGNNAG, N = A, C, G nebo T, se ukázaly být³² o 18–20 °C, tedy výrazně termostabilnější než vlasečky tvořené CANNNGG nebo GGNNAC, přičemž dvě centrální báze termostabilitu vlásenek ani jednoho ze tří uvedených typů hexameru výrazně neovlivňovaly³².

Dále byly provedeny studie³³ motivu GGA, který se dvakrát vyskytuje v dodekameru GTGGAATGGAAC. Tento dodekamer tvoří v nepřítomnosti komplementárního řetězce antiparalelní bimolekulární duplex, v němž jsou tripletů vázány. Přitom protilehlé centrální guaniny se nepárují, pouze se interkalují³³ mezi sousední páry GA. Naproti tomu triplet GCA v kontextu dekameru CAATGCAATG tvoří³⁴ vlásenku, jejíž smyčka obsahuje jedinou bázi, cytosin.

7. Expandující motiv $(GAA)_n$ a Friedreichova ataxie

Nedávno jsme zveřejnili³⁵ přehledný článek o konformačních vlastnostech a prodlužování molekul DNA obsahujících tandemová opakování tripletů CNG. Jejich zmnožení nad určitou hranici vede k závažným, zejména neurodegenerativním onemocněním. V článku jsme vyjádřili přesvědčení, že tandemová opakování tripletů CNG nejsou jediná, která vedou k prodlužování DNA. I jiné jednoduché repetitivní motivy totiž vnášejí do DNA konformační labilitu. Motiv GAA je jejich příkladem^{36,37}.

Úseky $(GAA)_n$ jsou v lidském genomu méně zastoupeny než jiné mikrosatelity³⁸ a jejich zmnožení se zdá mít souvislost s výskytem Friedreichovy ataxie³⁶. Jedná se o recesivní, autosomální degenerativní chorobu postihující nervový systém a srdce. Kritická oblast pro tuto nemoc se nachází v genomu na devátém chromozomu, který kóduje protein nazvaný frataxin³⁶. Většina pacientů trpících Friedreichovou ataxií má prodloužený mikrosatelit $(GAA)_n$ v prvním intronu tohoto genu³⁷. Stejně jako u mikrosatelitů $(CNG)_n$, i v tomto případě nabízejí neobvyklé konformační vlastnosti příslušné DNA vysvětlení pro prodlužování mikrosatelitů $(GA A)_n$ a jím způsobené onemocnění Friedreichovou ataxií. Centrální báze motivu GAA vysunutá vně šroubovice, jak plyne mj. z vlastností popsaných v předchozích kapitolách, je ještě zajímavější možností vysvětlení konformační anomálie jako příčiny prodlužování³⁹ než vlásenky uvažované většinou autorů⁴⁰ u motivů $(CNG)_n$.

V terminálním exonu receptorového genu pro imunoglobuliny u krysy se nachází komplexní mikrosatelit obsahující⁴¹ úsek DNA dlouhý 60 bází a bohatý na $(G+A)$, na který navazuje $(GGA)_{15}$ přímo napojený na $(GAA)_{36}$ nebo $(GAA)_{39}$; ten je přerušen dinukleotidem AA mezi pátým a šestým opakováním GAA. Tento mikrosatelit způsobuje nepřesnosti a předčasnou terminaci transkripce tohoto genu. To asi také jsou důsledky jeho neobvyklé konformace,

což je představa podporovaná skutečností, že tento mikrosatelit je citlivý⁴¹ vůči nukleaze S1. Tento příklad ukazuje, že neobvyklá konformace DNA může být instrumentem molekulární realizace i normálních fyziologických jevů, v nichž je nestabilita genetické informace žádoucí.

8. Centromery

Centromera je význačná součást chromozomů, která zajišťuje jejich separaci při buněčném dělení. Její DNA obsahuje repetitivní oblasti. Lidská centromera obsahuje⁴² sekvenci $(TGGAA)_n$. Ta tvoří⁴² stabilní sekundární strukturu i bez komplementárního řetězce DNA. Touto strukturuje⁴³ vlásenka obsahující páry purinových bází, zatímco ve smyčce se nachází nám již dobře známý triplet GGA. Tato vlásenka je stejně stabilní jako duplex s komplementem $(CCATT)_n$. Studie bimolekulárního homoduplexu⁴⁴ tvořeného dekamerem $(TGGAA TGGAA)$ ukázala, že centrální guaniny v jeho tripletech GGA se nepárují a jsou interkalovány mezi je obklopující páry GA. Na rozdíl od ostatních zbytků, cukerné kruhy těchto interkalovaných guaninů mají konformaci typickou pro RNA, nikoli DNA. Takto vznikají v DNA místa, v nichž jsou guaninové zbytky mnohem výrazněji rozpoznatelné okolními molekulami než v případě, kdy jsou součástí běžných konformací DNA. Studována byla⁴⁵ též konformační rovnováha centromerních sekvencí zahrnující monomolekulární vlásenku a bimolekulární homoduplex.

9. Triplexy $(G,A)_n$

Oligonukleotidy obsahující střídavé posloupnosti G a A, kromě výše uvedeného, ještě navíc asociují s duplexem $(GA)_n(TC)_n$ za vzniku triplexu²⁰. K této asociaci dochází v neutrálním prostředí, ale jen v přítomnosti milimolárních koncentrací zinku. Např. hořčík je v tomto ohledu neúčinný. Hnacím faktorem tvorby tohoto triplexu je zřejmě specifický zinkový¹⁹ duplex $(GA)_n(GA)_n$, který je v přítomnosti hořčíku také nestabilní. Byly též zkoumány⁴⁶ rovnováhy 23-meru $GGAA(GA)_5G_3AGAAGA$ zahrnující homoduplex a triplex, který vzniká po navázání 23-meru k duplexu, v němž je tento 23-mer již navázán ke komplementárnímu pyrimidinovému řetězci.

Výjimečně stabilní triplex se tvoří⁴⁷ po navázání oligonukleotidů $AG_3AG_3AG_2A_2G_3AG_3$ nebo $G_3AG_3AG_3A_2G_2AG_3AG_3AG_3$ -AGC k promotoru myšího protonkogenu c-k-ras, který

obsahuje homologní sekvenci. Této vlastnosti je možno využít k inhibici tohoto protoonkogenu *in vivo*. Dalším příkladem je 11-mer GGAGGGGGAGG, který je velice konzervativní součástí genu vpx viru SIV a HIV-2 způsobujících AIDS. I tento oligonukleotid by mohl být použit k antivirové terapii založené na triplexové DNA⁴⁸. Oligonukleotid (GGA)₁₁ se váže⁴⁹ k homolognímu úseku (GGA)₁₁ nacházejícímu se ve fragmentu rekombinantní DNA dlouhému 162 párů bází. Vzniká paralelní duplex, a to tak silně, že komplementární řetězec (TCC)₁₁ je touto vazbou oddisociován od svého partnerského řetězce a tvoří smyčku ve tvaru písmene D. Tuto asociaci (GGA)₁₁ podporuje⁵⁰ doména proteinu SRY, který determinuje vznik mužského pohlaví.

V telomérní oblasti krátkého ramínka lidského chromozomu číslo 8 existuje hypervariabilní lokus, jehož jednotlivé alely se vzájemně liší délkou o více než dvacet tisíc nukleotidů. Nukleotidové posloupnosti určené pro sedm alel ukazují, že jeden řetězec DNA této hypervariabilní oblasti je totálně purinový⁵¹. Na jeho koncích se nacházejí tetranukleotidová opakování (GGAA)_n a divergované varianty tohoto motivu zaujímají prostor mezi nimi. Opakování (GGAA)_n na okrajích jsou mezi alelami zachována, k délkovým polymorfismům ale dochází uvnitř této oblasti. Ukazuje se, že tento polypurinový úsek nabývá triplexové konformace *in vitro*. Tento triplex asi stojí za vznikem delecí a insercí v této oblasti.

10. Další motivy (G,A)_n a jejich biologický význam

Některé speciální transkripční faktory rozpoznávají v promotorech úseky DNA, které se nazývají elementy GAGA. Tyto úseky mají na jednom řetězci DNA převážně purinové báze. Příkladem elementu GAGA je sekvence GAGGAGGGAGGAGA, která má klíčový význam pro expresi genu pro inhibitor serinové proteasy u krysy⁵². Tento gen je regulován dvěma hormony. Mutace nebo delece v jeho elementu GAGA tento gen kompletně vypnou⁵². Element GAGA reguluje⁵³ např. i univerzální gen pro syntézu tetrapyrólů potřebných pro výstavbu chlorofylu a hemových proteinů u rostlin. *In vitro* vykazuje⁵³ tento element u sóji jednořetězcový charakter a tvoří komplex s jadernými faktory. Transkripční faktor z *Drosophily* se k elementu GAGA váže prostřednictvím zinkového prstu⁵⁴.

Dalším zajímavým motivem je GATA. Jeho tandemová opakování se vyskytují v té části chromozomu Y, která

determinuje mužské pohlaví⁵⁵. Tyto mikrosatelity jsou délkově polymorfní, obvykle se liší o jednu jednotku GATA (cit.⁵⁶). Tato délková polymorfie je pozoruhodná, protože jinak je délková polymorfie této oblasti lidského genomu extrémně malá. U některých ryb se místo mikrosatelitu GATA objevuje⁵⁷ mikrosatelit (GACA)_n. Studie (GATA)₅ ukázaly⁵⁸, že tento oligonukleotid nabývá v závislosti na okolních podmínkách jak duplexu tvořeného sekvencí (TATA)₅ tak z hlediska párování bází zcela odlišného duplexu, kterého nabývá (GAGA)₅, a reverzibilně mezi nimi izomeruje. U obratlovců existuje rodina transkripčních faktorů, které se vážou k sekvenci GATA prostřednictvím zinkového prstu⁵⁹. Tyto proteiny regulují tkáňově specifické procesy prostřednictvím koordinované dekon- denzace chromozomů⁶⁰.

Oligopurinové úseky se účastní i řady dalších zajímavých dějů. Např. dekamer A₅G₅ hraje klíčovou úlohu v programových delecích, které probíhají na tisících specifických míst v genomech řas a dalších organismů a mají klíčový význam pro jejich vývoj⁶¹. Tandemově opakováný pentanukleotid (AG₃A)₂ je důležitý pro virovou replikaci⁶². Oktamer (AG)₄ má nejvyšší aktivitu⁶³ jako primer polymerasy I *E. coli*, zatímco (G)_n má jen malou aktivitu a (A)_n, (T)_n i (C)_n nemají žádnou. Purinový úsek je používán⁶⁴ při iniciaci reverzní transkripce u HIV-1. Tricetimery A₁₅G₁₅ snadno asociují do vysokomolekulárních komplexů obsahujících i více než devět řetězců⁶⁵. Tyto komplexy jsou rezistentní vůči standardním denaturačním podmínkám.

11. Závěr

Konformačním vlastnostem DNA je věnována mnohem menší pozornost než konformačním vlastnostem proteinů nebo RNA. Důvodem je asi přesvědčení, že Watsonův-Crickův model vyřešil vše, co je na konformačních vlastnostech DNA podstatné pro její biologické fungování. Vývoj ale možná již brzy ukáže, že tato představuje mylná. Dílčí indikace v tomto směru probleskují relevantní odbornou literaturou již delší dobu a jejich četnost roste. I tento článek naznačil, že DNA disponuje účinnými nástroji, jak vyjadřovat informaci uloženou ve své primární struktuře i jiným způsobem než přepisem do RNA a proteinů.

Tato práce je podporována grantem č. 204/95/1270, který M. Vorlíčkové udělila Grantová agentura ČR.

LITERATURA

1. Bucher P., Yagil G.: J. DNA Sequencing and Mapping i, 157 (1991).
2. Lu G., Ferl R. I: Int. J. Biochem. 25, 1529 (1993).
3. Mrázek J., Kypr J.: J. Mol. Evol. 39, 439 (1994).
4. Peňázová H., Vodičková M.: Biophys. J. 73, 2054 (1997).
5. Lee J. S., Evans D. H., Morgan R.: Nucleic Acids Res. 8, 4305 (1980).
6. Wilson W. D., Dotrong M.-H., Zuo E. T., Zon G.: Nucleic Acids Res. 16, 5137 (1988).
7. Chou S.-H., Zhu L., Reid B. R.: J. Mol. Biol. 267, 1055 (1977).
8. Akiyama M., Maki H., Sekiguchi M., Hirouchi T.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 3949 (1989).
9. Mrázek J., Kypr J.: Comp. Appl. Biosci. 11, 195 (1995).
10. Kypr J., Mrázek J., Reich J.: Biochim. Biophys. Acta 1009, 280 (1989).
11. Rippe K., Fritsch V., Westhof E., Jovin T. M.: EMBO J. 11, 3777 (1992).
12. Kuryavyi V. V., Jovin T. M., v knize: *The Book of Abstracts of the Ninth Conservation in Biomolecular Structure and Dynamics*, str. a125. Albany 1995.
13. Robinson H., van der Marel G. A., van Boom J. H., Wang A. H.-J.: Biochemistry 31, 10510 (1992).
14. Robinson H., Wang A. H.-J.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90, 5224 (1993).
15. Robinson H., van Boom J. H., Wang A. H.-J.: J. Am. Chem. Soc. 116, 1565 (1994).
16. Suda T., Mishima Y., Asakura H., Kominami R.: Nucleic Acids Res. 23, 3771 (1995).
17. Huertas D., Bellolell L., Casasnovas J. M., Coll M., Azorín G.: EMBO J. 12, 4029 (1993).
18. Huertas D., Azorín F.: Biochemistry 35, 13125 (1996).
19. Ortiz-Lombardía M., Eritja R., Azorín F., Kypr J., Tejralová I., Vorlíčková M.: Biochemistry 34, 14408 (1995).
20. Bernués J., Beltrán R., Casasnovas J. M., Azorín F.: EMBO J. 8, 2087 (1989).
21. Shiber M. C., Braswell E. H., Klump H., Fresco J. R.: Nucleic Acids Res. 24, 5004 (1996).
22. Mukerji L., Shiber M. C., Fresco J. R., Spiro T. G.: Nucleic Acids Res. 24, 5013 (1996).
23. Casasnovas J. M., Huertas D., Ortiz-Lombardía M., Kypr J., Azorín F.: J. Mol. Biol. 233, 671 (1993).
24. Germann M. W., Kalisch B. W., Quong B. Q., van de Sande J. H., v knize: *The Book of Abstracts of the Ninth Conservation in Biomolecular Structure and Dynamics*, str. a066. Albany 1995.
25. Dolinnaya N. G., Ulku A., Fresco J. R.: Nucleic Acids Res. 25, 1100 (1997).
26. Dolinnaya N. G., Fresco J. R.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89, 9242 (1992).
27. Dolinnaya N. G., Braswell E. H., Fossella J. A., Klump H., Fresco J. R.: Biochemistry 32, 10263 (1993).
28. Shiber M. C., Lavelle L., Fossella J. A., Fresco J. R.: Biochemistry 34, 14293 (1995).
29. Yoshizawa S., Kawai G., Watanabe K., Miura K., Hirao I.: Biochemistry 36, 4761 (1997).
30. Traub W., Sussman J. L.: Nucleic Acids Res. 10, 2701 (1982).
31. Santa Lucia J. Jr., Turner D. H.: Biochemistry 32, 126612 (1993).
32. Sandusky P., Wooten E. W., Kurochkin A. V., Kavanaugh T., Mandecki W., Zuiderweg E. R. P.: Nucleic Acids Res. 23, 4717 (1995).
33. Zhu L., Chou S.-H., Reid B. R.: J. Mol. Biol. 254, 623 (1995).
34. Zhu L., Chou S.-H., Xu J., Reid B. R.: Nature Struct. Biol. 2, 1012 (1995).
35. Kypr J., Vorlíčková M.: Chem. Listy 91, 570 (1997).
36. Campuzano V., Montermini L., Molto M. D., Pianese L., Cossée M., Cavalcanti F., Monros E., Rodius F., Duclos F., Monticelli A., Zara F., Cañizares J., Koutnikova H., Bidichandani S. I., Gellera C., Brice A., Trouillas P., De Michele G., Filla A., De Frutos R., Palau F., Patel P. I., Di Donato S., Mandel J.-L., Cocozza S., Koenig M., Pandolfo M.: Science 271, 1423 (1996).
37. Filla A., De Michele G., Cavalcanti F., Pianese L., Monticelli A., Campanella G., Cocozza S.: Am. J. Hum. Genet. 59, 554 (1996).
38. Siedlaczek L., Epplen C., Rie O., Epplen J. T.: Electrophoresis 14, 973 (1993).
39. Harvey S. C.: Biochemistry 36, 3047 (1997).
40. Mitas M.: Nucleic Acids Res. 25, 2245 (1997).
41. Koch K. S., Gleiberman A. S., Aoki T., Leffert H. L., Feren A., Jones A. L., Fodor E. J.: Nucleic Acid Res. 23, 1098 (1995).
42. Grady D. L., Ratliff R. L., Robinson D. L., McCanlies E. C., Meyne J., Moyzis R. K.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89, 1695 (1992).
43. Catasti P., Gupta G., Garcia A. E., Ratliff R., Hong L.,

- Yau P., Moyzis R. K., Bradbury E. M.: *Biochemistry* 55,3819(1994).
44. Chou S.-H., Thu L., Reid B. R.: *J. Mol. Biol.* 244, 259 (1994).
 45. Chou S.-H., Zhu L., Reid B. R.: *J. Mol. Biol.* 259, 445 (1996).
 46. Noonberg S. B., Francois J.-Ch., Garestier T., H  lene C.: *Nucleic. Acids Res.* 23, 1956 (1995).
 47. Alunni-Fabbroni M., Pirulli D., Manzini G., Xodo L. E.: *Biochemistry* 35, 16361 (1996).
 48. Svinarchuk F., Monnot M., Merle A., Malvy C., Fermandjian S.: *Nucleic Acids Res.* 23, 3831 (1995).
 49. Mishima Y., Suda T., Kominami R.: *J. Biochem.* 119, 805 (1996).
 50. Suda T., Mishima Y., Takayanagi K., Asakura H., Odani S., Kominami R.: *Nucleic Acids Res.* 24, 4733 (1996).
 51. Brereton H. M., Fargair A. F., Turner D. R.: *Nucleic Acids Res.* 27,2563(1993).
 52. Le Cam A., Pantescu V., Paquereau L., Legraverend C., Fauconnier G., Asins G.: *J. Biol. Chem.* 269, 21532 (1994).
 53. Frustaci J. M., Sangwan I., O'Brian M. R.: *J. Biol. Chem.* 270, 7387(1995).
 54. Pedone P. V., Girlando R., Clore G. M., Gronenborn A. M., Felsenfeld G., Omichinski J. G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93, 2822 (1996).
 55. Roewer L., Arnemann J., Spurr N. K., Grzeschik K.-H., Epplen J. T.: *Hum. Genet.* 89, 389 (1992).
 56. Cooper G., Amos W., Hoffman D., Rubinsztein D.C.: *Hum. Mol. Genet.* 5, 1759 (1996).
 57. Handa I., Feichtinger W., Schmid M., Schr  der J. H., Tischler H., Epplen J. T.: *J. Mol. Evol.* 30, 456(1990).
 58. Vodi  kov   M., Kejnovsk   I., Kovanda J., Kypr J.: *Nucleic Acids Res.* 26, 1509 (1998).
 59. Joulin V., Richard-Foy H.: *Eur. J. Biochem.* 232, 620 (1995).
 60. Singh L.: *Electrophoresis* 16, 1586 (1995).
 61. Yao M.-Ch.: *TIG* 12, 26(1996).
 62. Chang Ch.-F., Tada H., Khalili K.: *Gene* 148, 309 (1994).
 63. Goulian M., Goulian S. H., Codd E. E.: *Blumenfeld A. Z.: Biochemistry* 12, 2893 (1973).
 64. Hungnes O., Tjotta E., Grinde B.: *Arch. Vitrol.* 116, 133(1991).
 65. Protozanova E., Macgregor R. B. Jr.: *Biochemistry* 55,16638(1996).

J. Kypr and M. Vorli  kov   (*Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Brno*): **Conformational Properties of DNA Strands Containing Guanine and Adenine**

The review describes non-canonical conformers that are adopted by DNA strands containing alternating guanine (G) - adenine (A) or related repeats. The following factors stand behind their remarkably extensive conformational polymorphism extending beyond the Watson and Crick DNA model: a) many possibilities of GA and GG pairing; b) strong interactions between large purine bases including interstrand base stacking overlap and other stabilizing interactions, e.g., intercalation of bases into the parent duplex; c) almost equal stabilities of guanine and adenine in the *anti* and *syn* orientations around the glycosidic bonds. It is suggested that the (G+A)-rich sequences perform their biological functions through the unique conformational properties. This adds a further argument for an imagination that DNA does not only carry out its biological functions through being a passive template for transcription.