



УДК 577.155.2 + 548.73

СТРУКТУРА КОМПЛЕКСОВ РИБОНУКЛЕАЗЫ S
С ПИРИМИДИНОВЫМИ НУКЛЕОТИДАМИПавловский А. Г., Борисова С. Н., Вагин А. А.,
Карнейский М. Я.

Институт кристаллографии Академии наук СССР, Москва;

Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва

Проведено исследование структуры кристаллических комплексов рибонуклеазы S с цитидин-3'-мо노фосфатом (3'-СМР) и цитидин-2'-монофосфатом (2'-СМР). Определены координаты атомов нуклеотидов в комплексах. Показано, что нуклеотиды в связанном состоянии находятся в *анти*-конформации и рибозное кольцо имеет 3-*эндо*-конформацию. Получены данные об изменениях в структуре рибонуклеазы при образовании комплексов.

Быстрое развитие методов белковой кристаллографии позволило получить данные о структуре многих глобулярных белков с высоким разрешением. Ряд работ посвящен изучению структуры рибонуклеазы A (РНКаза A) и ее каталитически активного производного — РНКазы S, образующегося при ограниченном протеолизе РНКазы A субтилизином [1]. Наиболее подробно изучена РНКазы S, координаты атомов которой уточнены до разрешения 2 Å [2]. Тем не менее сведения о структуре комплексов РНКазы с нуклеотидами носят в основном качественный характер [3,4]. Согласно этим данным, 3'-СМР (продукт расщепления 2' : 3'-СМР РНКазой A) в комплексе с РНКазой S имеет *анти*-конформацию, а 2'-СМР (один из наиболее сильных ингибиторов фермента) — *син*-конформацию [5]. Однако ни в одной из работ не приведены ни величина торсионного гликозидного угла, которая количественно характеризует конформацию, ни координаты атомов нуклеотидов. Имеется единственная работа, в которой приведены координаты атомов негидролизующегося аналога субстрата УрсА* в комплексе с РНКазой S, однако описание эксперимента в ней отсутствует [6]. Авторы этой работы отмечают возможность образования водородных связей между O (2) пириимидинового основания УрсА и NH основной цепи -Thr¹⁴⁵-, NH (3) этого же основания и OH-группой бокового радикала -Thr¹⁴⁵- и, возможно, между O(4) уридина и OH -Ser¹²³-.

Образование последней связи кажется нам маловероятным, поскольку расстояние между этими группами, согласно последним данным о координатах атомов рибонуклеазы, составляет 3,9—4,0 Å, что на 1,2 Å превышает среднее значение длины водородной связи. Ричардс и Вайкоф, не приводя экспериментальных данных, указывают на то, что в комплексах РНКазы S с пириимидиновыми 3'-нуклеотидами также возможно образование трех специфических водородных связей [3,4,6].

* УрсА-дипуриносиддифосфат отличается от дипуриносиддифосфата (УрА) тем, что атом O(5)' рибозы замещен на метилсескую группу.

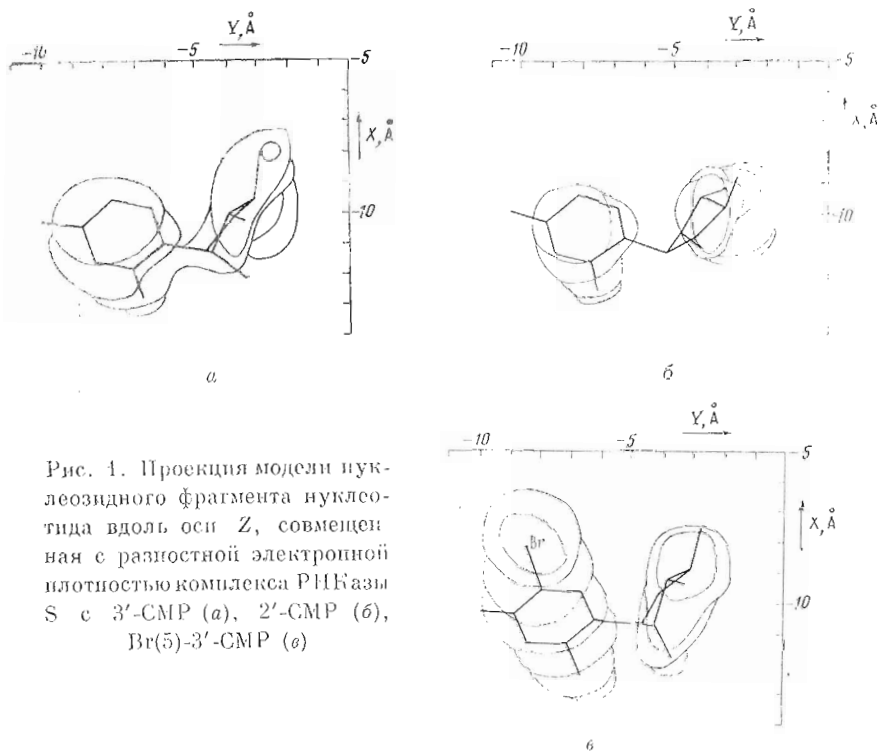


Рис. 1. Проекция модели нуклеозидного фрагмента нуклеотида вдоль оси Z, совмещенная с разностной электронной плотностью комплекса РНКазы S с 3'-СМР (а), 2'-СМР (б), Br(5)-3'-СМР (в)

Настоящая работа посвящена исследованию структуры кристаллических комплексов РНКазы S с 3'- и 2'-пиримидиновыми нуклеотидами. Анализ разностных карт электронной плотности совместно с картами электронной плотности комплексов с разрешением 3 Å, а также применение метода уточнения координат атомов, подробнее описанного ниже, позволили определить координаты и конформацию 3'-СМР и 2'-СМР в комплексе с РНКазой S.

Разностные синтезы. На трехмерных картах разностного ΔF -синтеза, построенных для комплексов РНКазы S с 3'-СМР (2'-СМР) с разрешением 3 Å, область максимального значения электронной плотности соответствует месту присоединения нуклеотида к молекуле рибонуклеазы и располагается в пиримидинсвязывающем участке активного центра [3]. Область состоит из двух перекрывающихся частей электронной плотности, одну из которых мы относим к основанию, а другую — к рибозному кольцу нуклеотида. Часть, соответствующая пиримидиновому основанию, на картах ΔF -синтеза проявляется в виде эллипсоида с примыкающим к нему небольшим выступом (рис. 1), который идентифицирован нами как атом кислорода O(2) основания. В пользу такого соотношения говорит и тот факт, что на картах ΔF -синтеза комплекса РНКазы с Br(5)-3'-СМР электронная плотность, соответствующая Br(5), располагается на эллипсоиде электронной плотности основания симметрично относительно выступа, обусловленного O(2). Положение атома брома, определенное точнее по «двойному» разностному синтезу между кристаллами комплексов РНКазы S с Br(5)-3'-СМР и РНКазы S с 3'-СМР, совпадает с центром этого «нароста» на ΔF -синтезе комплекса РНКазы S с Br(5)-3'-СМР (рис. 1 в).

Основание нуклеотида на картах разностного синтеза комплекса РНКазы S с 2'-СМР также представлено эллипсоидом с характерным выступом на месте атома кислорода.

Электронная плотность, соответствующая рибозе, на ΔF -синтезе комплексов представлена областью, максимальное значение которой составляет 79% максимального значения плотности основания нуклеотида для

Координаты атомов 3'-СМР и 2'-СМР (А) в комплексах нуклеотидов с РНКазой S
Координаты в системе, принятой в работе [6]

АТОМЫ	3'-СМР			2'-СМР		
	X	Y	Z	X	Y	Z
N(1)	-12,2(-10,9) *	-6,1(-6,1)	3,6(3,4)	-10,6(-11,0)	-6,4(-6,6)	3,5(3,3)
C(2)	-12,1(-11,8)	-7,1(-7,0)	4,1(3,9)	-11,4(-11,7)	-7,4(-7,7)	4,0(3,8)
O(2)	-13,0(-12,7)	-6,8(-6,7)	4,7(4,5)	-12,3(-12,7)	-7,1(-7,5)	4,9(4,6)
N(3)	-11,7(-11,5)	-8,4(-8,4)	3,7(3,6)	-11,3(-11,4)	-8,7(-8,9)	3,5(3,4)
C(4)	-10,8(-10,5)	-8,6(-8,7)	3,0(2,9)	-10,4(-10,4)	-9,0(-9,2)	2,6(2,6)
N(4)	-10,4(-10,3)	-9,9(-10,0)	2,7(2,6)	-10,3(-10,1)	-10,2(-10,4)	2,2(2,3)
C(5)	-9,8(-9,6)	-7,6(-7,8)	2,5(2,4)	-9,6(-9,6)	-8,0(-8,1)	2,1(2,1)
C(6)	-10,2(-9,8)	-6,3(6,4)	2,9(2,7)	-9,7(-10,0)	-6,7(-6,9)	2,6(2,4)
C(1)'	-11,6(-11,2)	-4,7(-4,7)	4,0(3,7)	-10,8(-11,4)	-5,0(-5,3)	4,0(3,7)
O(1)'	-10,6(-10,2)	-3,8(-3,9)	3,6(3,2)	-10,4(-10,8)	-4,1(-4,3)	3,0(2,8)
C(2)'	-11,7(-11,2)	-4,5(-4,4)	5,7(5,2)	-9,9(-10,8)	-4,8(-4,2)	5,2(4,7)
O(2)'	-12,6(-12,1)	3,5(-3,4)	5,8(5,4)	-10,5	-3,8	6,1
C(3)'	-10,3(-9,8)	-4,0(-4,0)	5,8(5,5)	-8,7(-9,6)	-4,2(-4,2)	4,6(4,7)
O(3)'	-10,3	-3,9	7,1	-8,1(-9,3)	-3,3(-3,3)	5,6(5,8)
C(4)'	-10,3(-9,5)	-3,6(-3,4)	4,6(4,3)	-9,3(-10,0)	-3,3(-3,4)	3,5(3,5)
C(5)'	-8,6(-8,0)	-2,7(-2,9)	4,3(3,9)	-8,4(-8,9)	-2,9(-3,0)	2,3(2,5)
P	-9,1	-3,1	8,0	-10,5	-3,8	6,1
O	-7,9	-3,6	7,1	-8,4	-3,8	7,3
O	-9,3	-4,0	9,2	-10,6	-4,0	8,6
O	-8,8	-1,7	8,4	-9,9	-1,8	7,5

* В скобках приведены координаты атомов нуклеозидного фрагмента нуклеотида, полученные в ходе уточнения с использованием карт ΔF -синтеза.

комплексов рибонуклеазы с 3'-СМР или Br(5)-3'-СМР и 62% для комплексов с 2'-СМР. По-видимому, рибозное кольцо нуклеотидов в комплексе с РНКазой имеет большую подвижность, чем основание, а в комплексе с 2'-СМР, когда водородная связь 2'-ОН с карбоксамидной группой -Asn⁴⁴ не образуется, оно обладает еще большей подвижностью.

Электронная плотность, соответствующая фосфатной группе нуклеотида, на картах ΔF -синтезов комплексов РНКазы S с 3'-СМР и Br(5)-3'-СМР мала, так как при образовании комплекса фосфатная группа нуклеотида занимает то место в активном центре фермента, которое в кристалле его было заполнено сульфат-анионом.

Более высокое значение разностной электронной плотности в фосфат-связывающем участке активного центра РНКазы S было обнаружено для комплекса РНКазы S с 2'-СМР, причем положение ее смещено по сравнению с положением аналогичной плотности на ΔF -картах двух других комплексов. На F_c -картах, построенных для этого комплекса, положение максимума электронной плотности, соответствующего фосфатной группе нуклеотида, не совпадает с подобным максимумом на картах электронной плотности РНКазы S и ее комплексов с 3'-нуклеотидами. Согласно литературным данным, никакого различия в положении фосфатной группы комплексов РНКазы S с разными нуклеотидами не отмечалось [5, 6].

Определение координат атомов нуклеотидов. Уточнение координат атомов было проведено с помощью метода поиска лучшего совпадения экспериментальной электронной плотности и плотности, рассчитанной по модели нуклеотида (табл. 1). В качестве экспериментальных значений электронной плотности брали значения электронной плотности F_c -синтеза. Наряду с этим было проведено также уточнение координат атомов нуклеозидного фрагмента нуклеотида с использованием карт разностного синтеза электронной плотности, точность которого значительно превышает точность F_c -синтеза [7].

Были выбраны и уточнены независимо модели нуклеотидов с 3'-эндо- и 2'-эндо-конформациями рибозы; длины связей, валентные и двугранные

Конформационные углы (град), полученные в ходе уточнения координат атомов нуклеотидов

Конформационные углы	3'-СМР		2'-СМР		3'-СМР [8]
	3'-эндо	2'-эндо	3'-эндо	2'-эндо	2'-эндо
C(2)-N(1)-C(1)'-O(1)' (χ_{CN})	177 (176) *	176 (175)	207 (198)	204 (202)	222
C(2)'-C(3)'-O(3)'-P	147	148	-	-	158
C(1)'-C(2)'-O(2)'-P	-	-	178	185	-
Ω , %					
88,8(92,5) 87,1(91,9) 88,9(95,3) 87,5(94,5) -					

* В скобках приведены углы, полученные при уточнении нуклеозидного фрагмента нуклеотида (с использованием разностного синтеза электронной плотности).

углы (в случае рибозы) брали из структурных работ по нуклеотидам [8—10] и в ходе уточнения не меняли.

Оценка пригодности метода оптимизации функции «перекрывания» Ω для задачи определения конформационного состояния рибозы в модели нуклеотида при данном уровне разрешения была проведена следующим образом: уточняли параметры моделей нуклеотидов с двумя конформациями сахара, однако вместо экспериментальной электронной плотности ρ_{oi} в выражении (5) брали значения ρ_{ti} , рассчитанные по модели 3'-СМР с 3'-эндо-конформацией сахара в каждой i -й точке по формуле

$$\rho_{ti} = \frac{1}{b^3 \sqrt{\pi^3}} \sum_j z_j \exp(-r_{ij}^2 (\varphi_1, \dots, \varphi_n)/b^2) \quad (1)$$

при некоторых значениях параметров $\varphi_1, \dots, \varphi_n$ и b 1,1 Å. При сравнении полученной таким образом плотности с плотностью модели нуклеотида с 3'-эндо-конформацией значение величины «перекрывания» Ω в ходе уточнения увеличивалось с 62,1 до 99,7, при этом после уточнения среднеквадратичное отклонение координат атомов модели от координат атомов, по которым была рассчитана плотность ρ_{ti} , составляло 0,03 Å. Для модели с 2'-эндо-конформацией аналогичные величины равны соответственно 96,9 и 0,23 Å. Очевидно, такой подход уже при разрешении ~ 3 Å позволяет установить конформацию сахарного кольца.

Результаты уточнения показали, что модели нуклеотидов с 3'-эндо-конформацией рибозы лучше соответствуют экспериментальной плотности (табл. 2). Проекция электронной плотности и совмещенные с ними проекции моделей нуклеозидов, полученные в результате уточнения координат атомов, приведены на рис. 1а, б.

Во всех исследованных комплексах (табл. 2) нуклеотиды находятся в *анти*-конформации (идеальная *анти*-конформация соответствует углу $\chi_{CN} = 240^\circ$). Угол гликозидной связи χ_{CN} равен 177° для 3'-СМР, т. е. нуклеотид находится в конформации, близкой к заслоненной, связь N(1)—C(6) почти проектируется на C(1)'—O(1)'. Расстояние между атомами C(6) и O(1)' равно 2,7 Å. Конформация 2'-СМР ближе к *анти*-конформации; угол χ_{CN} равен 202° . Расстояние C(6)—O(1)' в этом случае $\sim 2,8$ Å.

Сравнение конформаций цитидин-3'-фосфата в комплексе с РНКазой S и в свободном состоянии в кристалле [8] показало, что если в свободном состоянии реализуется конформация, близкая к чистой *анти*-конформации (угол χ_{CN} кристаллического конформера равен 222°), то в комплексе нуклеотид присутствует в энергетически невыгодной, заслоненной конфор-

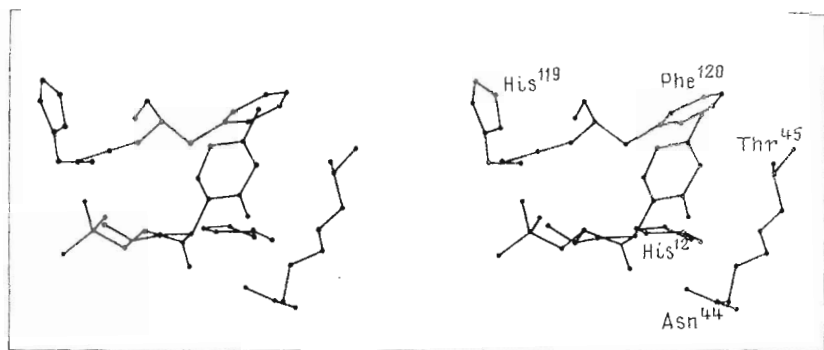


Рис. 2. Стереопроекция фрагмента структуры комплекса РНКазы S с 3'-СМР (координаты атомов РНКазы S приводятся по данным Т. Пауэрса [2])

мадии. Очевидно, такая конформация стабилизируется в активном центре фермента за счет взаимодействия атомов нуклеотида с ближайшими к нему группами белка. Очень близкая конформация относительно гликозидной связи уридина обнаружена для UрсА в комплексе с рибонуклеазой [6].

Двугранный угол $C(2)'-C(3)'\text{-}O(3)'\text{-}P$ для 3'-СМР близок к величине, найденной для нуклеотида в кристалле (табл. 2).

Связи нуклеотида с белком. Поскольку в настоящее время принята точка зрения, согласно которой три специфические водородные связи между основанием нуклеотида и белком в комплексе РНКазы с субстратом определяют пиримидиновую специфичность РНКазы А (S), мы детально проанализировали возможность образования этих связей. Было установлено, что в комплексе фермента с нуклеотидами могут образоваться две водородные связи: $\text{>C=O} \cdots \text{HN}$ (основной цепи -Thr⁴⁵-) с расстоянием $\text{O} \cdots \text{N}$ 2,8 Å для комплекса с 3'-СМР и 3,1 Å для комплекса с 2'-СМР, $\text{≡N} \cdots \text{HO}$ (боковой группы -Thr⁴⁵-) с расстоянием $\text{N} \cdots \text{O}$ 2,8 Å для 3'-СМР и 2,9 Å для 2'-СМР (рис. 2). Кроме того, в комплексе РНКазы S с 3'-СМР возможно образование водородной связи между 2'-гидроксильной группой рибозы и одним из атомов карбоксамидной группы -Asn⁴⁴- с длиной 2,6 Å. Расстояние от $O(2)'$ рибозы до атома азота имидазольного кольца -His¹²- составляет 3,4 Å, что на 0,4 Å больше суммы ван-дер-ваальсовых радиусов этих атомов. Очевидно, водородной связи между NH_2 цитозина и CH_2OH -группой -Ser¹²³- ни в одном из рассматриваемых комплексов нет, так как расстояние между атомами азота и кислорода этих групп больше 4 Å и молекул воды, способных в качестве промежуточного звена участвовать в водородной связи, не обнаружено.

Замена -Ser¹²³- на Ala не влияет на скорость расщепления производных цитидина, хотя заметно сказывается на скорости расщепления фосфодиэфирной связи в 2' : 3'-UMP и роU(U) [11]. Таким образом, полученные нами результаты хорошо согласуются с тем фактом, что гидроксильная группа -Ser¹²³ не принимает непосредственного участия в образовании и превращении фермент-субстратных комплексов РНКазы с производными цитидина.

Угол между бензольным кольцом -Phe¹²⁰ и гетероциклом нуклеотида составляет $\sim 130^\circ$. Кольца практически не перекрываются (рис. 2); расстояние между двумя ближайшими атомами (атомом азота в 4-м положении основания и одним из атомов углерода бензольного кольца) $\sim 3,3$ Å для комплекса с 3'-СМР и 3,8 Å с 2'-СМР. Правда, здесь нами не учитывается сдвиг -Phe¹²⁰, происходящий в результате образования комплексов (см. ниже), который приводит к более близкому контакту между бензольным кольцом и гетероциклом нуклеотида.

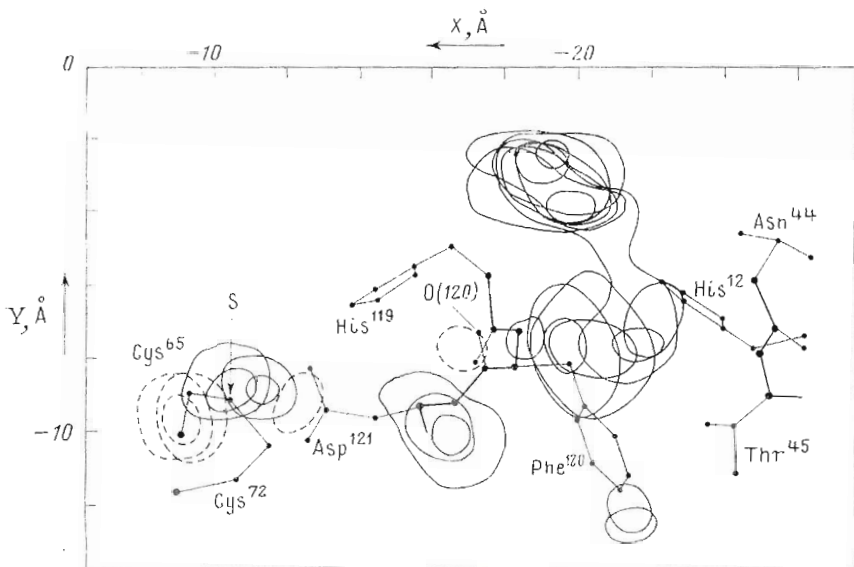


Рис. 3. Положение сечений разностного синтеза электронной плотности комплекса РНКазы S с 3'-СМР в проекции вдоль оси Z. Нижний уровень изолиний $0,25 \text{ e}/\text{Å}^3$, интервал $0,25 \text{ e}/\text{Å}^3$. Сплошная и штриховая линии — изолинии положительной и отрицательной электронной плотности соответственно

В непосредственной близости от фосфатной группы 3'-СМР находится имидазольный цикл -His-¹¹⁹. Расстояние между центром этой группы (атомом фосфора) и одним из атомов азота имидазольного кольца — около $4,2 \text{ Å}$, однако возможен более близкий контакт с атомом кислорода фосфатной группы.

Конформационные изменения РНКазы. В результате проведенных до настоящего времени работ сложилось мнение, что РНКаза является «жестким» ферментом, конформация которого не меняется при образовании специфических комплексов с лигандами [3, 4]. В то же время исследование взаимодействия РНКазы А с нуклеотидами в растворе показало, что образование комплекса сопровождается определенными изменениями в структуре фермента. В связи с этим мы провели детальный анализ полученных нами карт разностной электронной плотности. Оказалось, что при образовании комплекса в структуре активного центра рибонуклеазы происходят определенные конформационные изменения как вблизи центра связывания пиримидинового нуклеотида, так и на значительном удалении от него ($\sim 12 \text{ Å}$ от центра пиримидинового кольца). Ближайшие изменения определяются смещением всего остатка Phe¹²⁰ (пара положительного и отрицательного пиков около карбонильной группы Phe¹²⁰ на рис. 3) в направлении связи C'—C². При этом бензольное кольцо занимает более определенную ориентацию (положительный пик на рис. 3 в районе кольца). Пары пиков свидетельствуют также о сдвиге основной и боковой цепей -Asp-¹²¹.

Смещение групп атомов, удаленное от пиримидинсвязывающего участка активного центра, наблюдается в основном в районе петли, образованной аминокислотными остатками 65—72. Наиболее четко в этой области проявляется изменение в положении дисульфидного мостика, а точнее, смещение атома серы -Cys-⁶⁵ примерно на $0,3 \text{ Å}$ (пара положительного и отрицательного пиков электронной плотности рядом с атомом серы на рис. 3), причем прослеживается корреляция между максимальными значениями электронной плотности нуклеотида на ΔF -синтезе и плотностью этой пары, т. е. существует связь между заполнением нуклеотидом кристалла рибонуклеазы и количеством сместившихся атомов серы.

Структурные данные для различных комплексов РНКазы S с нуклеотидами

Комплексы РНКазы S с	Концентрация раствора нуклеотида, мм	R_F	$(\langle \Delta \rho^2 \rangle)^{1/2}$	Максимум электронной плотности пика нуклеотида на ΔF -синтезе, $e/\text{Å}^3$
3'-СМР	3	0,22	0,05	0,77
B γ (5)-3'-СМР	3	0,21	—	0,61
2'-СМР	1	0,23	0,03	0,62

Поскольку данное смещение не зависит от природы используемого пиримидинового нуклеотида, то, очевидно, оно является результатом связывания нуклеозидного фрагмента нуклеотида. В связи с этим возникает предположение (обоснованность которого в настоящее время изучается), что этот процесс может быть каким-то образом связан с субстратной специфичностью фермента.

Экспериментальная часть

Кристаллы РНКазы S выращивали по методике, описанной в работе [12]. Кристаллические комплексы получали настаиванием кристаллов рибонуклеазы в растворах нуклеотидов в течение 3—7 дней. Концентрации нуклеотидов в растворе, содержащем 75% насыщения сульфата аммония и 0,2 М натрий-ацетатного буфера (рН 5,5), приведены в табл. 3.

Рентгеновские измерения подробно описаны в работе [13]. Сравнение наборов дифракционных отражений кристаллов РНКазы S и комплексов проводили по величине фактора рассогласования R_F [13], значения которых для различных комплексов даны в табл. 3.

Для расчета карт разностных синтезов электронной плотности (ΔF -карт) в качестве фурье-коэффициентов использовали величины

$$(K |F_c| - |F_p|) \exp(i\varphi_p) \quad (2)$$

для центросимметричных рефлексов,

$$2(K |F_c| - |F_p|) \exp(i\varphi_p)$$

для рефлексов общего типа, где $|F_p|$ и $|F_c|$ — модули структурных амплитуд кристаллов РНКазы S и комплексов, φ_p — фаза структурной амплитуды белка (получена Пауэрсом при уточнении координат атомов РНКазы S), K — шкальный фактор.

Кроме разностных карт рассчитывали также карты электронной плотности кристаллов комплексов (F_c -карты), где в качестве фурье-коэффициентов использовали величины

$$K |F_c| \exp(i\varphi_p)$$

для центросимметричных рефлексов,

$$(2K |F_c| - |F_p|) \exp(i\varphi_p) \quad (3)$$

для рефлексов общего типа.

Для оценки уровня ошибок ΔF -синтеза определяли среднеквадратичную ошибку электронной плотности (см. табл. 3) по формуле.

$$\langle \Delta \rho^2 \rangle = \frac{1}{V^2} \sum_{hkl} (\Delta F^2 + \sigma^2), \quad (4)$$

где σ — ошибка определения величины ΔF (ΔF равно $(K|F_c| - |F_p|)$ для centrosимметричных рефлексов и $2(K|F_c| - |F_p|)$ для рефлексов общего типа), V — объем элементарной кристаллической ячейки.

Для определения конформации и координат атомов нуклеотидов в поле атомов РНКазы S проводили уточнение координат по алгоритму, описанному в работе [14]. В качестве исходных были выбраны координаты атомов нуклеотидов, полученные в результате совмещения атомной модели с экспериментальной электронной плотностью, в компараторе Ричардса. Программа, написанная на «Фортране» для ЭВМ БЭСМ-6, реализует алгоритм нахождения максимума функции «перекрытия»

$$\Omega(\varphi_1, \dots, \varphi_n) = \frac{\sum_{ij} \rho_{oi} z_j \exp(-r_{ij}^2(\varphi_1, \dots, \varphi_n)/b^2)}{\left[\sum_i \rho_{oi}^2 \sum_j \left(\sum_j z_j \exp(-r_{ij}^2(\varphi_1, \dots, \varphi_n)/b^2) \right)^2 \right]^{1/2}}, \quad (5)$$

где ρ_{oi} — значение экспериментальной электронной плотности в точке i ; z_j — число электронов (номер) j -го атома модели; b — некоторый параметр выбирался таким, чтобы совпадение расчетной и экспериментальной электронных плотностей было оптимальным ($b = 1,1 \text{ \AA}$); $r_{ij}(\varphi_1, \dots, \varphi_n)$ — расстояние от центра j -го атома модели до i -й точки, в зависимости от переменных $\varphi_1, \dots, \varphi_n$, которыми определяется положение и ориентация в пространстве атомной модели как целого, а также конформация нуклеотида: угол гликозидной связи χ_{CN} и двугранные углы $\text{C}(2)\text{'-C}(3)\text{'-O}(3)\text{'-P}$ и $\text{C}(3)\text{'-O}(3)\text{'-P-O}(5)\text{'}$.

Точки i , в которых задавались значения экспериментальной электронной плотности, строились в элементарной ячейке по сетке с шагами ΔX $0,74 \text{ \AA}$, ΔY $1,29 \text{ \AA}$, $\phi \Delta Z$ $0,81 \text{ \AA}$.

Максимум функции «перекрытия» находили градиентным методом. Величину градиента рассчитывали аналитически.

Авторы выражают искреннюю признательность Т. Пауэрсу, приславшему результаты уточнения координат атомов РНКазы S, В. Ф. Флорентьеву за синтезированное им производное цитидиловой кислоты Br(5)-3'-CMP, В. В. Борисову за помощь в проведении этой работы. Авторы благодарны Б. К. Вайнштейну за постоянный интерес к работе и поддержку.

ЛИТЕРАТУРА

1. Richards F. M., Vithayathil P. J. (1959) *J. Biol. Chem.*, **234**, 1459—1465.
2. Freer S. T., Alden R. A., Levens S. A., Kraut J. (1976) in *Crystallographic Computing Techniques* (Ahmed F. R., ed.), p. 317—321, Munksgaard, Copenhagen.
3. Richards F. M., Wyckoff H. W. (1971) in *The Enzymes* (Boyer P. D., ed.), 3rd Ed., vol. 4, pp. 647—806, Acad. Press, N. Y.
4. Richards F. M., Wyckoff H. W., Allwell N. (1970) in *The Neurosciences: Second Study Program* (Schmitt F. O., ed.), pp. 901—912, Rockefeller Press, N. Y.
5. Богданов А. А., Леднева Р. К. (1975) в сб. *Молекулярная биология*, т. 5, с. 24—52, ВИНТИ, М.
6. Richards F. M., Wyckoff H. W. (1973) in *Atlas of Molecular Structure in Biology* (Phillips D. C., Richards F. M., eds.), vol. 1, Clarendon Press, Oxford.
7. Henderson R., Moffat J. K. (1971) *Acta Cryst.*, **B27**, 1414—1420.
8. Sundaralingam M., Jensen L. H. (1965) *J. Mol. Biol.*, **13**, 914—929.
9. Suck D., Manor P. C., Saenger W. (1976) *Acta Cryst.*, **B32**, 1727—1737.
10. Saenger W., Suck D., Eckstein F. (1974) *Eur. J. Biochem.*, **46**, 559—567.
11. Hodges R. S., Merrifield R. B. (1975) *J. Biol. Chem.*, **250**, 1231—1241.
12. Карпейский М. Я., Дудкин С. М., Сахаровский В. Г., Шляпников С. В. (1974) в сб. *Структура и функции активных центров ферментов*, с. 183—203, «Наука», М.
13. Борисова С. Н., Павловский А. Г., Борисов В. В., Карпейский М. Я., Вайнштейн Б. К., Сосфенов Н. И. (1975) *Биоорг. химия*, **1**, 1659—1667.
14. Ford L. O., Johnson L. N., Machin P. A., Phillips D. C., Tjian R. (1974) *J. Mol. Biol.*, **88**, 349—371.

Поступила в редакцию
15.IV.1977

THE STRUCTURE OF RIBONUCLEASE S COMPLEXES
WITH PYRIMIDINE NUCLEOTIDES

PAVLOVSKY A. G., BORISOVA S. N., VAGIN A. A.,
KARPEJSKY M. Ya.

*Institute of Crystallography and Institute of Molecular Biology,
Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

X-ray study of complexes of pancreatic ribonuclease S with 3'-CMP and 2'-CMP has been performed at 3 Å resolution. The atomic coordinates of bound nucleotides have been determined by the method of best fit with electron density maps. The nucleotides are stabilized by hydrogen bonding to the protein and are bound to the latter in *anti*-conformation, their ribose ring having 3'-*endo* conformation. The data are obtained which testify to considerable changes in the enzyme structure upon complex formation.
