



ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

УДК 547.963.32.04

ПРИРОДНЫЕ КОВАЛЕНТНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ВИРУСНЫХ БЕЛКОВ И НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Вартапетян А. Б.

*Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,
межфакультетская проблемная научно-исследовательская лаборатория
молекулярной биологии и биоорганической химии им. А. Н. Белозерского*

Рассматриваются известные в настоящее время природные ковалентные соединения вирусных белков с геномами ДНК- и РНК-содержащих вирусов. Особое внимание уделено анализу структуры нуклеиново-белковых комплексов. Обсуждается функциональная роль ковалентных соединений белков с нуклеиновыми кислотами, в частности возможность участия белка в инициации синтеза вирусных нуклеиновых кислот.

СОДЕРЖАНИЕ

- I. Введение
- II. Ковалентные соединения белок – РНК РНК-содержащих вирусов
 - II.1. Ковалентное соединение вирионной РНК пикорнавирусов с белком VPg
 - II.1.а. Белок VPg, обнаружение и локализация на РНК
 - II.1.б. Структура «узла связи» между РНК и белком VPg
 - II.1.в. Свойства белка VPg
 - II.1.г. Возможные функции белка VPg
 - II.2. Ковалентные соединения белок – РНК некоторых РНК-содержащих вирусов растений и животных
- III. Ковалентные соединения белок – ДНК ДНК-содержащих вирусов
 - III.1. Ковалентное соединение белок – ДНК аденовирусов
 - III.2. Ковалентное соединение белок – ДНК бактериофага Ф29 и родственных бактериофагов
 - III.3. Ковалентные соединения белков А и А* с ДНК бактериофага ФХ 174
 - III.4. Ковалентные соединения белков с ДНК некоторых вирусов животных
 - III.4.а. Ковалентное соединение белка с ДНК парвовируса Н-1
 - III.4.б. Ковалентное соединение белка с ДНК вируса SV 40
 - III.4.в. Ковалентное соединение белка с ДНК вируса гепатита В
- IV. Заключение

I. Введение

Фундаментальную роль в процессах жизнедеятельности играют нековалентные нуклеиново-белковые взаимодействия. Однако за последние пять лет появились данные, убедительно продемонстрировавшие, что существует и другой тип нуклеиново-белковых взаимодействий, а именно ковалентные соединения между белками и нуклеиновыми кислотами. Сформировавшиеся в течение этого периода представления о данном классе соединений опираются на детальное изучение структуры ковалентных соединений белков и нуклеиновых кислот и исследование их свойств *in vivo* и *in vitro*. В настоящее время уже ясно, что такие ковалентные соединения не присущи какому-либо одному объекту, они широко распространены в живой природе и охватывают взаимодействие белков как с ДНК, так и с РНК.

Функции ковалентных соединений белков и нуклеиновых кислот в большинстве случаев неизвестны. Однако имеются основания считать, что эти соединения могут играть чрезвычайно важную роль в процессах воспроизведения генетической информации (репликация ДНК и РНК) и биосинтеза белка.

Наибольшие успехи достигнуты при исследовании ковалентных РНК- и ДНК-белковых соединений вирусов благодаря относительной простоте исследуемых объектов. Их изучение позволило выявить ряд общих принципов ковалентных взаимодействий вирусных белков и нуклеиновых кислот; в то же время оно продемонстрировало многообразие форм таких взаимодействий и возможность их участия в различных процессах при репликации вирусов.

Чрезвычайно полезным для понимания функции ковалентных нуклеино-белковых соединений оказалось изучение их структуры, а именно: изучение белкового и нуклеинового компонента соединения, локализация места связывания белка с РНК или ДНК, изучение «узла связи» между нуклеиновой кислотой и белком.

Настоящий обзор посвящен анализу структур ковалентных соединений белок — нуклеиновая кислота вирусов и вытекающих из них возможных функций этих соединений.

II. Ковалентные соединения белок—РНК РНК-содержащих вирусов

Ковалентные соединения вирусных белков с геномом ряда РНК-содержащих вирусов растений и животных представляют собой, пожалуй, наиболее изученный класс природных ковалентных нуклеино-белковых соединений. Детальные данные о структуре и возможной функции таких соединений получены для пикорнавирусов — мелких РНК-содержащих вирусов животных.

II.1. Ковалентное соединение вирионной РНК пикорнавирусов с белком VPg

Несмотря на то что различные представители пикорнавирусов (вирусы полиомиелита, энцефаломиокардита, ящура и другие) исследуются очень давно, лишь в 1977 г. удалось обнаружить низкомолекулярный белок, названный VPg (вирусный белок, ассоциированный с геномом), ковалентно связанный с вирионными РНК вирусов этой группы [1—3].

II.1.a. Белок VPg, обнаружение и локализация на РНК

Геном пикорнавирусов представляет собой плюс-цепь РНК длиной 7500 нуклеотидов, содержащую на 3'-конце poly(A)-последовательность [4, 5]. Известно, что подавляющее большинство эукариотических мРНК имеет на 5'-конце специфическую группировку — кэп (от английского *cap* — колпачок, шапочка), которая, как принято считать, необходима для эффективной трансляции матриц. Поскольку трансляция пикорнавирусных мРНК должна осуществляться на тех же рибосомах, что и трансляция клеточных мРНК, логично было предположить, что на 5'-конце вирусной мРНК также находится кэп-группа. Однако оказалось, что как вирусные РНК, выделенные из полисом, так и свободные вирусные РНК, находящиеся в цитоплазме зараженных клеток, имеют на 5'-конце не кэп-группу [6—9], а свободный 5'-фосфорилированный нуклеотид — уридиловую кислоту [7, 10]. Синтез РНК *in vivo*, как правило, начинается с пуринового, а не с пиримидинового нуклеозидтрифосфата. Поэтому можно было предположить, что рUp на 5'-конце пикорнавирусных мРНК появляется в результате процессинга (например, при отрезании затравки — праймера) вновь синтезированных РНК. Это предположение дало основание для анализа 5'-концевой структуры вирионных РНК пикорнавирусов. Исследование 5'-конца молекулы вирионной РНК показало, что в отличие от вирусной мРНК ее 5'-концевой нуклеотид блокирован [11], но не кэп-группой и не три-(ди-)фосфатом, а низкомолекулярным основным белком VPg [1—3, 12—18].

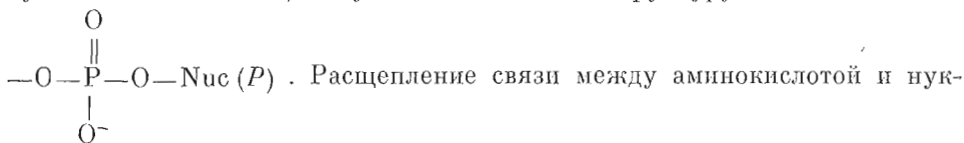
В пользу того, что белок VPg связан именно с 5'-концом молекулы вирионной РНК, свидетельствуют следующие факты: 1) гидролиз РНК рибонуклеазами приводит к образованию соединения VPg—pUp, что в сочетании с другими ферментативными и химическими обработками свиде-

тельствует о 5'-концевой локализации VPg на РНК [18, 19]; 2) в случае полиовируса методом электронной микроскопии с использованием двух принципиально различных подходов белок VPg был локализован на 5'-конце РНК [20, 21]; 3) прямое сравнение последовательности олигонуклеотида, связанного с VPg, с 5'-концевой последовательностью полиовирусной мРНК показало, что они различаются лишь наличием белка на 5'-конце РНК [22, 23].

II.1.6. Структура «узла связи» между РНК и белком VPg

Доказательство наличия ковалентной связи между белком и нуклеиновой кислотой является принципиальным моментом изучения рассматриваемых в обзоре соединений, поэтому на нем следует остановиться особо. Устойчивость связи между компонентами в денатурирующих условиях (фенольная депротеинизация, додецилсульфат натрия, высокая ионная сила, высокая температура) служит первым, хотя и косвенным, указанием в пользу наличия ковалентного соединения между белком и нуклеиновой кислотой. Наиболее прямые и строгие доказательства существования такой связи могут быть получены только при изучении структуры «узла связи», которое включает в себя определение типа связи между нуклеиновой кислотой и белком, определение аминокислотного и нуклеотидного остатков, участвующих в образовании этой связи.

Для выделения «узла связи» препарат вирусной нуклеиновой кислоты, тотально меченной изотопом ^{32}P и содержащей ковалентно связанный белок, подвергают исчерпывающему гидролизу нуклеазами. В результате такой обработки удается выделить (например, методом электрофореза в полиакриламидном геле, хроматографии или гель-фильтрации) белок с ковалентно присоединенным к нему нуклеотидным остатком, причем это соединение оказывается меченным изотопом ^{32}P , что необходимо для его дальнейшего анализа. Последующее расщепление белкового компонента (гидролиз протеиназами и (или) соляной кислотой) приводит к выделению «узла связи» — соединения аминокислота—нуклеотид. На этом этапе используется совокупность химических и ферментативных обработок «узла связи», позволяющих предварительно оценить тип связи между нуклеотидом и аминокислотой. Способность выделенного соединения гидролизаться щелочью и фосфодиэстеразами позволяет предполагать наличие фосфодиэфирной связи; лабильность его при обработке соляной кислотой и гидроксиламином при pH 5,0 указывает на возможность существования фосфоамидной связи между компонентами [24]. Во всех известных случаях, когда тип связи между вирусным геномом и белком установлен, показано, что эта связь является фосфодиэфирной [18, 25]. В ее образовании участвует фосфатная группа 5'-концевого нуклеотида нуклеиновой кислоты, и «узел связи» имеет структуру: аминокислота —

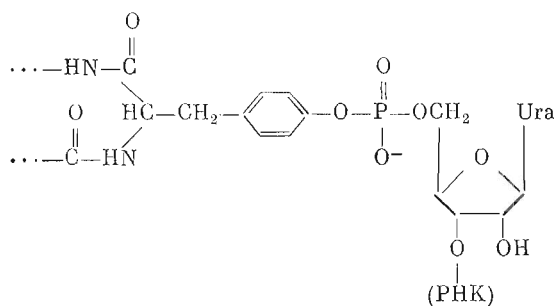


леотидом фосфодиэстеразой змеиного яда приводит к освобождению нуклеотида, содержащего ^{32}P -метку, который может быть таким образом идентифицирован.

Наличие фосфодиэфирной связи между белком и нуклеиновой кислотой предполагает участие оксиаминокислотного остатка белка в образовании этой связи. Для идентификации оксиаминокислоты фосфодиэфирную связь в соединении аминокислота—нуклеотид гидролизуют микрококковой нуклеазой таким образом, что 5'-фосфатная группа нуклеотида, участвующая в образовании этой связи и несущая ^{32}P -радиоактивность, остается связанной с аминокислотой. Таким образом, удается идентифицировать O-фосфорилированное производное оксиаминокислоты [26—28].

Структура узла связи между VPg и РНК установлена для полиовируса (тип 1) и вируса энцефаломиокардита. Связь между VPg и РНК яв-

ляется фосфодиэфирной [2, 3, 18]. В образовании этой ковалентной связи участвует 5'-фосфатная группа 5'-концевой уридилевой кислоты РНК и экигруппа остатка тирозина белка VPg [26—29]. Таким образом, «узел связи» между белком и РНК может быть представлен в виде: VPg(Tyr(pU))РНК.

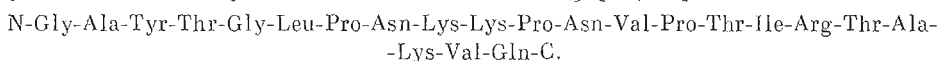


Интересно, что фосфодиэфирная связь в соединении Tyr(pU) является макроэргической. Стандартная свободная энергия ее образования равна $-9,6$ ккал/моль [30]. По своим гидролитическим свойствам связь белка VPg с РНК других пикорнавирусов не отличается от таковой в полиовирусе и вирусе энцефаломиокардита [25], что дает основание говорить о связи Tyr(pU) как о явлении, общем для всех пикорнавирусов, и предполагать наличие общих механизмов ее образования и гидролиза.

II.1.в. Свойства белка VPg

Белок VPg является вирус-специфическим белком [31]. Эксперименты по его выделению и анализу показали, что он имеет ряд необычных свойств. Так, VPg, связанный с остатком уридилевой кислоты, обладает большой способностью к сорбции, в результате чего манипуляции с исследуемым соединением приводят к существенным его потерям. В то же время белок VPg в комплексе с додецилсульфатом натрия обнаруживает прямо противоположные свойства: VPg не удается осадить из раствора ни 10%-ной уксусной кислотой, ни 25%-ной трихлоруксусной кислотой [25]. Растворимость VPg в кислотах позволяет предположить, что он является низкомолекулярным основным белком. Действительно, для полиовирусного белка VPg показано, что при pH 7,5 он имеет заряд +7 [19]. VPg-белок вируса энцефаломиокардита является менее основным белком [12], однако при pH 3,5 он обладает положительным зарядом, достаточным для миграции белка, связанного с остатком pUp, к катоду [15, 18].

Молекулярная масса белков VPg, определенная методом электрофореза в геле полиакриламида, дает значения от 4000 (полиовирусный белок VPg) до 12 000 (белок VPg вируса энцефаломиокардита) [12]. Однако необходимо отметить, что это значение молекулярной массы может оказаться весьма приближенным, поскольку VPg-белки являются гидрофобными, основными и низкомолекулярными. Сравнение известной частичной аминокислотной последовательности белка VPg полиовируса с нуклеотидной последовательностью полиовирусной РНК позволило определить участок генома полиовируса, кодирующий белок VPg, размер и полную аминокислотную последовательность VPg [31, 32]:



Полиовирусный белок VPg состоит из 22 аминокислотных остатков и имеет молекулярную массу 2354 [33]. Полученные результаты хорошо согласуются с накопленными экспериментальными данными о его свойствах (см. выше): VPg действительно оказывается низкомолекулярным основным белком (полипептидом), содержит только один остаток Tyr (третий с N-конца), который, по-видимому, и вовлечен в образование связи с РНК.

В последнее время с помощью более тонких методов анализа белков в полиакриламидном геле для вируса энцефаломиокардита были обнаружены две формы белка VPg (VPgA и VPgB), различающиеся по молекулярной массе (10 000 и 8000 соответственно) [28], а для вирусов ящура и полиомиелита — различающиеся по заряду [34, 35]. Сравнение пептидных карт белков VPgA и VPgB обнаруживает частичную гомологию их аминокислотных последовательностей [34, 36]. Пути образования двух форм VPg и возможные функциональные следствия этого процесса в настоящее время неизвестны. Одним из возможных объяснений наличия двух форм VPg является неоднозначный процессинг вирусного полипептида — предшественника в процессе образования активных вирусных белков — явление, известное для пикорнавирусов. В настоящее время наличие белков VPg, ковалентно связанных с РНК, установлено для следующих представителей группы пикорнавирусов: для полиовирусов типа 1 [2, 3, 14], 2 [13], 3 [37], вируса Коксаки [38], энцефаломиокардита [12, 15, 28], Менго [17] и ящура [16].

II.1.g. Возможные функции белка VPg

Функция (или функции), выполняемая белком VPg, в настоящее время неизвестна. Имеющиеся экспериментальные данные, однако, позволили выдвинуть ряд предположений на этот счет. Показано, что белок VPg не пугжен для проникновения вирусной РНК в клетку и ее последующей трансляции [16, 23]. Так, вирусная мРНК, выделенная из полисом и в отличие от вирионной РНК не содержащая белка VPg, также является инфекционной [3]. Наличие двух типов РНК (с белком VPg и без него) предполагает наличие в клетках специфического механизма, способного отщеплять белок VPg от РНК. И действительно, как в зараженных, так и в незараженных пикорнавирусами клетках целого ряда организмов обнаруживается ферментативная активность, способная специфически расщеплять связь между белком VPg и РНК без существенной деградации обоих компонентов [39—41]. Фермент не специфичен к белковому компоненту соединения в том смысле, что РНК с ковалентно присоединенным к 5'-концу пептидом, остающимся после протеолитической деградации белка VPg, остается полноценным субстратом для фермента. В то же время длина олигонуклеотида, присоединенного к белку VPg, важна для гидролиза связи VPg—РНК. Так, если в качестве субстрата взять VPg, связанный с нонануклеотидом, то он гидролизует в 2 раза хуже, чем в случае VPg—РНК, а VPg с присоединенным остатком рUp вообще не является субстратом для фермента [40]. Функции, выполняемые этим ферментом в незараженных клетках, а также его специфичность неизвестны.

Сложным является вопрос об участии белка VPg в процессе трансляции вирусной РНК. Многочисленные данные свидетельствуют о том, что вирусная РНК, имеющая свободный 5'-конец (без кэп-группы и без белка VPg), способна эффективно транслироваться *in vivo* и *in vitro* [42—47]. Возможно, различие 5'-концевых структур клеточных и вирусных мРНК используется при конкуренции «хозяйских» и вирусных мРНК за аппарат трансляции, что могло бы приводить к избирательной трансляции лишь вирусных мРНК в зараженной клетке [6, 48]. Способна ли транслироваться вирионная РНК, содержащая ковалентно связанный белок VPg, в настоящее время неясно [49, 50]. Если трансляция такого комплекса не происходит, то появляется возможность регулировать уровень трансляции вирусной РНК, а следовательно, и цикл размножения вируса на стадии отщепления белка VPg от РНК. Белком-регулятором этих процессов мог бы быть упомянутый выше клеточный фермент, способный специфически отщеплять белок VPg от РНК.

Еще одна возможная функция белка VPg — участие его в формировании вирусной частицы. Действительно, все молекулы РНК, выделенные из вирионов, содержат белок VPg на 5'-конце, а вирусные мРНК, его не содержащие, не входят в состав вирионов. Однако какие-либо прямые данные о роли белка VPg в морфогенезе пикорнавирусов отсутствуют.

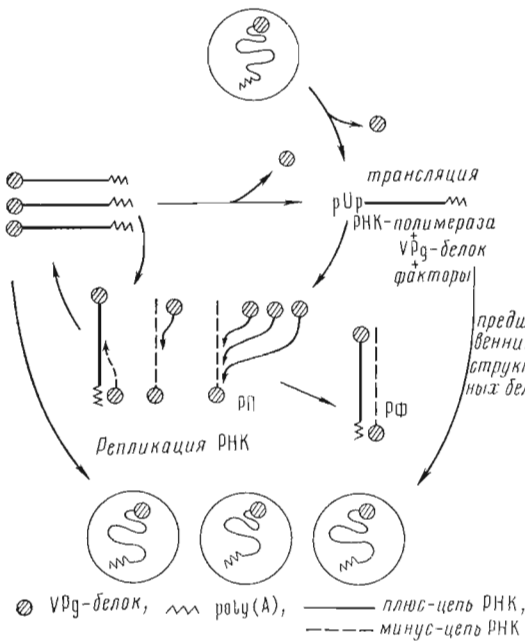


Рис. 1

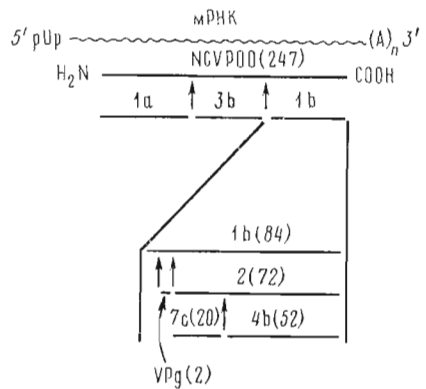


Рис. 2

Рис. 1. Схема репликации пикорнавирусов с учетом возможных функций белка VPg
 Рис. 2. Схема процессинга полиовирусного белка NCVP1b, предшественника белков VPg, 7c (вирус-специфическая протеиназа), 4b (вирус-специфическая РНК-полимераза). Стрелками показаны места разрыва полипептидной цепи в молекулах белков-предшественников. В скобках — молекулярная масса белков (в кДа)

Одним из наиболее интересных вопросов является вопрос об участии белка VPg в репликации вирусных РНК, а точнее, в процессе инициации репликации. Синтез вирусной РНК в клетках, зараженных пикорнавирусами, осуществляется вирусным репликативным комплексом [51]. Нуклеиновый компонент репликативного комплекса — репликативный предшественник (РП) — представляет собой минус-нить РНК (или, возможно, двухцепочечную репликативную форму — РФ РНК) с несколькими синтезирующимися плюс-нитями РНК, использующими минус-нить в качестве матрицы (см. рис. 1). Оказалось, что даже короткие синтезируемые *in vivo* плюс-цепи полиовирусной РНК (длиной примерно 500 нуклеотидов), выделенные из репликативного предшественника, содержат белок VPg и не содержат конечного цуклозидтрифосфата [52]. 5'-Концы обеих нитей РФ РНК, как и минус-цепь РП, также заблокированы белком VPg [3, 20, 52, 53]. Белки VPg, связанные с различными формами вирусных РНК, имеют одинаковую молекулярную массу и, может быть, тождественны; однако фермент, отщепляющий VPg от полиовирусной вирионной РНК (плюс-нить), не отщепляет VPg от минус-нити РНК [54]. Причина такой избирательности неизвестна.

Таким образом, белок VPg оказывается связанным с 5'-концевым нуклеотидом РНК уже на самых ранних стадиях ее синтеза. 5'-Концевым нуклеотидом пикорнавирусных РНК является пиримидиновый нуклеотид — уридилловая кислота. В то же время известно, что РНК-полимераза обычно не начинает синтез РНК с пиримидинового нуклеотида. Эти данные были положены в основу приведенной на рис. 1 схемы репликации пикорнавирусов, в которой белку VPg отводится чрезвычайно важная и неожиданная на первый взгляд роль праймера при репликации вирусных РНК. Суть ее заключается в следующем: после высвобождения вирионной РНК из вириона связь между белком VPg и РНК может расщепляться клеточным ферментом с образованием вирусной мРНК. Удаление белка

VPg может быть необходимым шагом для трансляции вирусной РНК. Синтезирующиеся при трансляции образовавшейся вирусной мРНК вирусные белки, включая белок VPg или его предшественник, образуют (с участием «хозяйских» белков [55, 56]) белковый комплекс (репликазу), способный иницировать синтез РНК. В процессе инициации синтеза РНК белок VPg может играть роль праймера, используя гидроксильную группу остатка тирозина, и ковалентно присоединяться к первому нуклеотиду РНК — уридилевой кислоте [25]. Приведенная модель репликации РНК предполагает, что матричная вирусная РНК не обязательно должна быть связана с белком VPg и поэтому мРНК или вирионная РНК, обработанная протеиназой, должна сохранять инфекционность, что согласуется с экспериментальными данными.

Обращает на себя внимание следующий факт. Во всех известных в настоящее время ковалентных соединениях VPg с РНК пикорнавирусов 5'-концевым нуклеотидом, связанным с белком VPg, является пиримидиновый нуклеотид — уридилевая кислота [2, 12, 13, 17, 38, 57, 58]. Предполагаемое участие белка VPg в роли праймера, возможно, во всех этих случаях необходимо для того, чтобы начать синтез РНК с уридилевой кислоты. Чем может быть продиктована такая необходимость? Все пикорнавирусы имеют на 3'-конце генома генетически закодированную poly(A)-последовательность [59], которая может быть совершенно необходимым в функциональном отношении компонентом вирусного генома [60, 61]. Поэтому синтез минус-нити РНК обязательно должен начинаться с комплементарной poly(A) poly(U)-последовательности, а следовательно, с пиримидинового нуклеотида. Возможно, стратегия репликации генома пикорнавирусов такова, что для инициации синтеза обеих нитей РНК используется один и тот же механизм. И коль скоро праймирование синтеза РНК белком VPg может оказаться необходимым этапом синтеза минус-цепи, аналогичный механизм используется и для инициации синтеза плюс-цепи РНК [62]. Сказанное может быть отнесено также к полиаденилированным геномам комовирусов, неповирусов, потивирусов и калицивирусов, вирионы РНК которых также связаны с белком VPg (см. ниже).

Исходя из предположения, что для синтеза вирусных РНК необходим белок VPg, который затем отщепляется от РНК в процессе образования мРНК, можно ожидать, что в зараженных клетках существует значительное количество свободного белка VPg. Однако попытка обнаружить пул свободного белка VPg в экстрактах из зараженных клеток оказалась неудачной [25]. Этот факт можно объяснить, предположив, что VPg выщепляется из белка-предшественника лишь в момент инициации синтеза РНК и сразу же ковалентно соединяется с растущей цепью РНК. В свою очередь при отщеплении белка VPg от РНК при образовании мРНК белок VPg должен быстро расщепляться протеиназами. Последнее положение было подтверждено экспериментально. Оказалось, что белок VPg, отщепленный от РНК, гидролизуеться специфической клеточной протеиназой. Ноануклеотид, ковалентно связанный с белком VPg, не способен защитить белок от протеолиза [63]; в то же время белок VPg, связанный с вирионной РНК, этой протеиназой не расщепляется [41, 63]. В результате постоянной потребности в синтезе белка VPg для репликации вирусной РНК, связанная с отсутствием пула свободного белка VPg, может являться одним из факторов, обеспечивающих сопряжение процессов репликации и трансляции вирусных РНК.

Таким образом, механизм выщепления белка VPg из предшественника представляет существенный интерес, поскольку есть основания считать, что этот процесс может быть сопряжен с инициацией репликации вирусной РНК. В настоящее время считается, что при трансляции вирусной РНК синтезируется полипротеин NCVPOO (имеется лишь одна точка инициации трансляции вблизи 5'-конца плюс-цепи РНК), который затем подвергается посттрансляционному процессингу клеточными и вирусными протеиназами [64]. На рис. 2 приведена схема процессинга белков полиовируса [32]. Предшественником для ряда неструктурных белков (включая белок VPg, вирусный компонент репликазы — белок 4b, способный осу-

ществлять элонгацию синтеза вирусной РНК в присутствии затравки [65—67], вирус-специфическую протеиназу 7с [68, 69]) является белок 1b [33, 70]. Тесное соседство генов белков VPg, 7с и 4b в геноме пикорнавирусов и отсутствие пула свободного белка VPg в зараженной клетке привело к возникновению гипотезы, детализирующей схему инициации репликации вирусной РНК с участием белка VPg. Согласно этой гипотезе, образовывать ковалентное соединение с остатком уридилловой кислоты может не сам белок VPg, а его предшественник, белок 1b [68, 71]. Уридилкованный белок 1b расщепляется с образованием VPg-белка, связанного с остатком рU, активной РНК-полимеразы 4b и протеиназы 7с. Показано, что такое расщепление может осуществляться протеиназой 7с, встроенной в белок 1b, автокаталитически [72]. Таким образом, в системе одновременно генерируется как РНК-полимераза, так и праймер для инициации репликации РНК.

Неясным, однако, остается ряд принципиальных моментов. Так, неясен механизм уридилкования белка 1b (или VPg-белка). Более того, не показано, что такой процесс в принципе происходит. Кроме того, анализ полиовирусной РФ РНК показал, что 5'-конец плюс-нити РНК имеет точный комплемент на 3'-конце минус-нити РНК, а не содержит дополнительного неспаренного остатка уридилловой кислоты [73], чего было бы логично ожидать, если бы в качестве праймера использовался белок VPg, связанный с остатком рU (или 1b-белок с присоединенным рU-остатком).

Предположение о том, что для инициации репликации пикорнавирусных РНК нужен белковый праймер, не является доказанным. Нельзя целиком отбрасывать возможность инициации репликации вирусных РНК без белка VPg с последующим присоединением его к 5'-концевому нуклеотиду синтезированного олигонуклеотида. Так, Балтимору с сотр. [56, 74] удалось показать, что *in vitro* в системе репликации полиовирусной РНК, содержащей лишь вирусные белки 2 и 4b (см. рис. 2) и «хозяйский» фактор, удается иницировать синтез комплементарной нити на плюс-цепи РНК. Правда, эти результаты получены на системе репликации РНК *in vitro*, они относятся лишь к синтезу минус-цепи РНК на матрице плюс-цепи РНК, и, кроме того, не показано, что в этой системе происходит правильная инициация синтеза РНК (т. е. инициация на 3'-конце матрицы).

II.2. Ковалентные соединения белок — РНК некоторых РНК-содержащих вирусов растений и животных

Обнаружение низкомолекулярного белка VPg, ковалентно связанного с геном пикорнавирусов, послужило мощным стимулом для исследования вирионных РНК других РНК-содержащих вирусов. В результате выяснилось, что геном пикорнавирусов не является уникальным в смысле наличия ковалентно ассоциированного с геном белка. Аналогичные структуры, хотя и существенно менее исследованные как в структурном, так и в функциональном отношении, обнаружены для вирусов животных группы калицивирусов и для нескольких групп растительных вирусов — комовирусов, неповирусов, потивирусов и вируса мозаики южной фасоли. Известные в настоящее время ковалентные соединения РНК-белок обнаруживают существенное сходство по ряду признаков, однако в некоторых случаях имеются различия, которые, как сейчас кажется, могут иметь принципиальное значение.

Геном мелких вирусов растений, относящихся к группам комовирусов и неповирусов, состоит из двух одноцепочечных молекул РНК, различающихся по нуклеотидной последовательности и отдельно инкапсулирующихся. Обе РНК вирусов обеих групп 3'-полнадендривированы, являются матричными РНК при синтезе вирусных белков в зараженной клетке, и обе РНК необходимы для инфекционности вирусов. С обеими молекулами вирионной РНК этих вирусов ковалентно связаны низкомолекулярные белки VPg (см. таблицу). Белки VPg, связанные с обеими молекулами РНК, одинаковы [75—80] и отличаются от других представителей своей группы [77, 80, 81]. Сказанное позволяет предположить, что белки VPg комови- и неповирусов являются вирус-специфическими. В случае комови-

Позитивные рибовирусы, геномы которых ковалентно связаны с белком VPg

Группа	Представители	Геном	Наличие 3'-poly(A)	Молекулярная масса VPg	Нуклеотид РНК, связанный с VPg	Влияние протеолитического удаления VPg	
						на инфекционность РНК	на трансляцию РНК
Пикорнавирусы	Вирусы полиомиелита, Коксаки, энцефаломиокардита, Менго, ящура	Одноцепочечная РНК	+	3000–12 000	5', pU	–	–
Комовирусы	Вирусы мозаики коровьего гороха, мозаики тыквы, истинной мозаики конских бобов	Две молекулы одноцепочечной РНК	+	5000	5', pU	–	–
Неповирусы	Вирус кольцевой пятнистости табака, черных колец томатов	То же	+	4000	?	+	–
Потивирусы	Вирус гравировки табака	Одноцепочечная РНК	+	6000	?	–	?
Калицивирусы	Вирус везикулярной экзантемы	То же	+	10 000	?	+	?
	Вирус морского льва		+	12 000–15 000	?	+	?
Вирус мозаики южной фасоли	Штамм фасоли	То же	–	12 000	?	+	?
	Штамм вигны		–	10 000	?	+	?

русов показано, что белок VPg связан с 5'-концевыми нуклеотидами обеих РНК, причем в обоих случаях этим нуклеотидом является уридилловая кислота [81]. Связь между белком VPg и РНК, по-видимому, является фосфодиэфирной, поскольку она гидролизует фосфодиэстеразой змеиного яда и 0,3 М щелочью [81].

Предположения о функциональной роли белков VPg комовирусов основываются во многом на аналогии с пикорнавирусами. Как и в случае пикорнавирусов, трансляция обеих вирусных РНК *in vitro* не зависит от того, удален ли белок VPg протеолитически или нет [76, 82]. Одна из вирусных РНК (В-РНК комовирусов, РНК-1 неповирусов) способна *in vitro* реплицироваться независимо от присутствия второй РНК; при этом образующиеся новые молекулы РНК ковалентно связаны с белком VPg [80, 83, 84]. На этом основании делается заключение о локализации генов вирус-специфической РНК-полимеразы и белка VPg в молекуле одной и той же РНК, что не противоречит предположению об участии белка VPg в репликации РНК.

Перечисленные выше свойства демонстрируют большое сходство соединений VPg-РНК комовирусов и неповирусов. Однако в отличие от комовирусов, а также от пикорнавирусов белок VPg неповирусов абсолютно необходим для инфекционности РНК неповирусов, причем протеолитическое удаление белка VPg даже с одной из двух молекул геномной РНК приводит к полной потере инфекционности [78, 82].

Аналогичное различие в зависимости инфекционности препарата VPg-РНК от протеолитической обработки можно отметить и для РНК-содержащих вирусов растений, относящихся к группе потивирусов, и вирусов животных, относящихся к группе калицивирусов, геном которых представляет собой одноцепочечную 3'-полиаденилированную плюс-цепь РНК. С вирионной РНК вирусов обеих групп ковалентно связан низкомолекулярный белок VPg [85–87] (см. таблицу). Кроме того, белок VPg связан

с вирус-специфической двухцепочечной формой РНК калицивирусов [87]. Удаление белка VPg в результате протеолитической обработки препарата VPg-РНК потивирусов не снижает, как и в случае пикорнавирусов, инфекционности препарата вирусной РНК [85], в то время как белок VPg калицивирусов необходим для инфекционности вирусной РНК [86]. Это отличие калицивирусов и неповирусов от вирусов других групп кажется принципиальным, поскольку существующий в настоящее время гипотетический механизм репликации РНК пикорнавирусов, распространяемый и на другие РНК-содержащие вирусы, имеющие белок VPg, связанный с геномом, в силу обширного сходства свойств этих соединений не предполагает необходимости наличия белка VPg для инфекционности вирусной РНК (см. раздел, посвященный возможным функциям белка VPg пикорнавирусов).

Еще одним растительным вирусом, с геномной РНК которого ковалентно связан низкомолекулярный белок VPg, является вирус мозаики южной фасоли [88, 89]. Такой же белок связан с 5'-концом одной из субгеномных РНК этого вируса — с РНК белка оболочки РЗ [90]. Как и в случае калицивирусов и неповирусов, VPg вируса мозаики южной фасоли необходим для инфекционности РНК [88].

Обращает на себя внимание следующее обстоятельство. В случае 3'-полиаденилированных РНК пикорнавирусов, комовирусов, неповирусов, потивирусов и калицивирусов возможная функция белка VPg в качестве праймера при инициации репликации вирусных РНК связывалась с необходимостью инициации синтеза минус-цепи РНК на poly(A)-последовательности плюс-цепи РНК. Однако в отличие от вирионных РНК рассмотренных выше вирусов РНК вируса мозаики южной фасоли не имеет 3'-концевой poly(A)-последовательности. Наличие белка VPg, ковалентно связанного с РНК данного вируса, следовательно, продиктовано другими причинами. И в данном случае (как и в случае неповирусов и калицивирусов) потребность в белке VPg может объясняться его необходимостью для инфекционности вирусной РНК.

В настоящее время неизвестно, имеются ли принципиальные различия структуры «узла связи» и функции низкомолекулярных VPg белков, ковалентно связанных с вирионными РНК, у вирусов растений и животных, относящихся к разным группам; или же они в этом отношении сходны и необходимость VPg для инфекционности РНК некоторых вирусов является лишь дополнительным свойством конкретного белка VPg. Общие черты, обнаруженные у соединений VPg-РНК различных вирусов, позволяют надеяться, что такая особенность генома, как наличие ковалентно связанного с РНК белка, отражает какой-то общий фундаментальный механизм в процессах репликации данных вирусов.

III. Ковалентные соединения белок — ДНК ДНК-содержащих вирусов

III.1. Ковалентное соединение белок — ДНК аденовирусов

Геном аденовирусов представляет собой линейную двухспиральную молекулу ДНК с молекулярной массой $(20-25) \cdot 10^6$. Важной чертой аденовирусной ДНК является наличие протяженных (длиной около 100 нуклеотидов) концевых инвертированных повторов [91], содержащих нуклеотидные последовательности, общие для аденовирусов различных серотипов [92]. 5'-Концевые нуклеотиды (или олигонуклеотиды) аденовирусных ДНК, по-видимому, не имеют комплементарных последовательностей на 3'-концах комплементарных соседних нитей ДНК в дуплексе [93, 94].

ДНК аденовирусов, выделенная из вирусных частиц без использования протеолитических ферментов, образует кольцевые и олигомерные структуры [95-98]. Как выяснилось, причина такого поведения ДНК заключается в наличии молекул белка с молекулярной массой 55000 (55K-белок), ковалентно связанных с 5'-концами обеих нитей ДНК [99, 100]. Белок связан с вирионными ДНК аденовирусов человека, относящихся к 5 различным группам (аденовирусы типа 2, 4, 5, 6, 7, 12, 19) [96, 99, 101-103], с ДНК аденовирусов обезьян SA7 [104, 105], SV20 [106] и SV38 [107], с ДНК аденовируса тушайи [108], аденовируса мышей

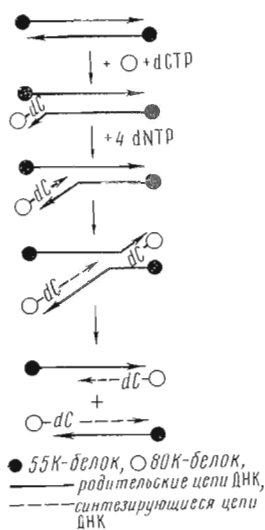


Рис. 3. Схема репликации ДНК аденовирусов с участием терминальных 55K- и 80K-белков

массой $55 \cdot 10^3$ ($80 \cdot 10^3$) непонятным образом резко меняет свойства связанной с ним молекулы ДНК, имеющей молекулярную массу $25 \cdot 10^6$. Перечисленные выше аномальные свойства ДНК-белковых комплексов широко используются в настоящее время для быстрого анализа ДНК на наличие ковалентно связанного с ней белка.

Функции 55K- и 80K-белков исследуются в настоящее время. Показано, что инфекционность комплекса белок-ДНК аденовирусов в 50–100 раз больше, чем инфекционность препарата вирусной ДНК, не имеющей белка [98, 132, 133]. Изучение репликации аденовирусной ДНК *in vitro* показало, что характерные для репликации *in vivo* черты (инициация репликации ДНК около обоих концов генома, синтез дочерних нитей в направлении от 5'-к 3'-концу с вытеснением родительской нити той же полярности [134]) наблюдаются лишь при использовании в качестве матрицы соединения белок-ДНК [135, 136]. Если же в качестве матрицы использовать препарат вирусной ДНК, обработанный протеиназой, то происходит процесс, напоминающий репаративный синтез ДНК [135]. Таким образом, 55K- или 80K-белок, связанный с родительской ДНК, по-видимому, необходим для репликации вирусной ДНК.

Другой привлекательной возможностью использования белка, по уже не родительского, а дочернего (80K-белка), является праймирование белком репликации вирусной ДНК. Действительно, инициация репликации линейных ДНК представляет сложную проблему, поскольку все известные ДНК-полимеразы требуют 3'-гидроксильную группу праймера для элонгации цепи. Такая 3'-гидроксильная группа могла бы быть предоставлена РНК-затравкой, однако ее последующее удаление приведет к образованию брешы на 5'-конце нити ДНК. В ряде случаев проблему удается решить, используя концевые повторы или липкие концы линейных ДНК для образования кольцевых структур, что дает возможность заполнить брешь. В тех случаях, когда линейные нити ДНК могут образовывать самокомплементарные шпильки на конце молекулы, праймером для ДНК-полимеразы может служить 3'-конец родительской нити ДНК. Однако ни одна из этих моделей не реализуется при инициации репликации аденовирусной ДНК, поскольку на концах аденовирусной ДНК нет необходимых структур [137]. Вместо этого у генома аденовирусов есть две отличительные концевые структуры, которые могут иметь отношение к инициации репликации ДНК: а) одинаковая нуклеотидная последовательность концевых областей генома; б) белок, ковалентно связанный с 5'-концевым неспаренным нуклеотидом ДНК.

разуют кольцевые структуры и агрегаты вследствие гидрофобных взаимодействий между молекулами 5'-концевого терминального белка. Линейные молекулы ДНК длиной в один геном удаётся выделить лишь после обработки ковалентного соединения протеиназой, додецилсульфатом натрия или щелочью [95]. Белок, ковалентно связанный с ДНК, придает ассоциированной с ним ДНК новые свойства. Так, концевые рестрикционные фрагменты аденовирусной ДНК при электрофорезе не входят в агарозный гель (или имеют аномальную подвижность) [98, 129, 130]; комплекс белок-ДНК прочно (но обратимо) связывается с бензоилированной нафталированной DEAE-целлюлозой, со стекловолкнистыми фильтрами [131], в то время как свободная ДНК в тех же условиях практически не взаимодействует с указанными сорбентами. Таким образом, белок с молекулярной

Гинотетическая схема инициации репликации аденовирусной ДНК с участием белка выглядит следующим образом (рис. 3). Дезоксицитидинтрифосфат ковалентно присоединяется к 80К-белку с образованием соединения 80К-белок—dСМР, имеющего 3'-гидроксильную группу, необходимую для элонгации цепи ДНК. Такой комплекс узнает место инициации репликации ДНК в результате взаимодействия с терминальным белком родительской цепи ДНК и с идентичными концевыми последовательностями ДНК. В пользу этой модели говорят результаты, полученные при репликации аденовирусной ДНК *in vitro*. 80К-белок, присоединенный к ДНК, обнаруживается на ранней стадии репликации, когда синтезированные нити ДНК имеют длину не более 2% генома аденовируса [117]. Кроме того, в системе *in vitro* 80К-белок способен взаимодействовать с dСТР с образованием постулированного ковалентного соединения 80К-белок—dСМР [138, 139], причем добавление АТР резко стимулирует образование данного соединения [139]. Выделен достаточно чистый препарат 80К-белка, способный осуществлять эту реакцию [140]. Для образования соединения 80К-белок—dСМР необходимо присутствие в системе комплекса 55К-белок—ДНК. Протеолитическое удаление терминального белка с матрицы приводит к неспособности образовывать соединение 80К-белок—dСМР [139, 141]. Этот результат свидетельствует о том, что образование соединения 80К-белок—dСМР происходит на матрице ДНК, по-видимому, при участии родительского 55К-белка. После образования ковалентного соединения комплекс 80К-белок—dСМР остается ассоциированным с ДНК-матрицей [141]. Ингибирование синтеза аденовирусной ДНК апидикололином не препятствует образованию соединения 80К-белок—dСМР [138, 139].

Таким образом, изображенная на рис. 3 схема инициации репликации аденовирусной ДНК не противоречит имеющимся в настоящее время экспериментальным данным и является, пожалуй, единственной, способной объяснить инициацию репликации вирусной ДНК и особенности концевых участков аденовирусного генома.

Помимо участия в инициации репликации ДНК белок, связанный с 5'-концами ДНК, может защищать однонитевую вирусную ДНК (например, в составе репликативного интермедиата) от действия клеточных экзонуклеаз [142]. Кроме того, поскольку более 90% аденовирусной ДНК, выделяемой из вирионов, содержат 55К-белок, нельзя исключить потребность в 55К-белке при формировании вирусных частиц [143]. Возможно, важную роль в этом процессе играет расщепление 80К-белка до 55К-белка. Процессинг 80К-белка в составе соединения 80К-белок—ДНК с образованием комплекса 55К-белок—ДНК, входящего в состав вирионов, происходит на поздней стадии вирусной инфекции и не требуется ни для элонгации синтеза аденовирусной ДНК, ни для участия родительского белка, связанного с ДНК, в инициации синтеза новых молекул ДНК [144].

Основываясь на аналогии с ковалентными РНК-белковыми соединениями, можно задать вопрос: существует ли в клетке аденовирусная ДНК, не связанная с 55К (или 80К-) белком, и, если существует, то какова ее функция и механизм образования? Четкого ответа на эти вопросы нет, хотя обнаружено чрезвычайно любопытное явление: трансформирующая и опухолеродная активности соединения белок—ДНК аденовируса SA7 намного меньше (минимум в 15 раз), чем у препарата белок—ДНК, предварительно обработанного протеиназой [133]. Возможно, 55К-белок мешает интеграции вирусного и клеточного геномов или блокирует транскрипцию гена, необходимого для трансформации или возникновения опухоли [133]. В любом случае кажется логичным, что при заражении аденовирусом пермиссивных клеток функциональную значимость могут приобретать малоинфекционные формы вирусной ДНК (т. е. ДНК без 55К-белка). Ферментом, осуществляющим предполагаемое отщепление 55К-белка от вирусной ДНК, может являться клеточная нуклеаза, специфичная к однонитевым участкам ДНК, поскольку показано, что эндонуклеаза S1 способна отщеплять 55К-белок от аденовирусной ДНК [94].

Геном бактериофага Ф29 *Bacillus subtilis* представляет собой линейную двухспиральную молекулу ДНК с молекулярной массой $12 \cdot 10^6$. ДНК фага Ф29 имеет концевые инвертированные повторы длиной 6 пар оснований [145, 146]. ДНК фага Ф29, выделенная из вирионов без использования протеолитических ферментов, образует кольцевые и олигомерные структуры [147]. По всем перечисленным выше свойствам вирионная ДНК фага Ф29 очень сильно напоминает аденовирусную ДНК. Более того, как и в случае аденовирусной ДНК, с обоими 5'-концами ДНК фага Ф29 ковалентно связаны молекулы белка, что и является причиной образования кольцевых и более сложных форм фаговой ДНК [148, 149].

Белок, связанный с ДНК фага Ф29, является вирус-специфическим ранним белком, продуктом гена 3 бактериофага Ф29 (белок р3), и имеет молекулярную массу 27 000 [150]. Белок р3 связан с 5'-концами обеих нитей ДНК-дуплёкса, выделенного из вирионов фага Ф29 [148, 151, 152], и с реплицирующимися молекулами фаговой ДНК в зараженной клетке [153]. Связь между белком р3 и ДНК является фосфодиэфирной. В ее образовании принимает участие 5'-фосфатная группа 5'-концевого нуклеотида ДНК фага Ф29 — дезоксиадениловой кислоты — и оксигруппа серина белка р3 [154]. Таким образом, связь может быть представлена в виде: белок р3 (Ser(pdA)) ДНК.

С концевыми инвертированными повторами ДНК мелких бактериофагов *B. subtilis*, более или менее родственных фагу Ф29, M2Y, Nf [152], GA-1 [152, 155, 156] и, возможно, SP02 и Ф105 [157], также ковалентно связаны белки с молекулярной массой 28 000—30 000 [152]. Таким образом, ковалентное соединение белка с ДНК носит и в этом случае достаточно общий характер. Однако поскольку наиболее изучено ковалентное соединение белок — ДНК фага Ф29, то именно на его примере и будут рассмотрены основные структурные и функциональные свойства данной группы комплексов.

Соединение р3-белок—ДНК фага Ф29 обладает теми же аномальными свойствами, которые были отмечены выше для соединения белок—ДНК аденовирусов [153, 158—160]. В целом сравнение соединений белок—ДНК двух таких совершенно различных групп вирусов, как аденовирусы и бактериофаги *B. subtilis*, демонстрирует их удивительное сходство. Общие черты структурной организации геномов аденовирусов и фагов *B. subtilis* говорят о том, что репликация ДНК фага Ф29 сталкивается с теми же проблемами на стадии ее инициации, которые обсуждались выше в случае репликации ДНК аденовирусов [145, 146, 161]. Поэтому схема инициации репликации ДНК аденовирусов (см. рис. 3) была распространена и на репликацию ДНК описываемой группы бактериофагов *B. subtilis*. При этом белку р3 (или соединению белок р3—dAMP) отводилась роль праймера при инициации репликации ДНК [143].

При изучении роли белка р3 в процессе репликации ДНК фага Ф29 широко использовались мутанты *ts3* и *sus3* фага Ф29, неспособные синтезировать активный белок р3 в непермиссивных условиях. Этот подход позволил выявить новые факты, касающиеся репликации фаговой ДНК, которые и послужили причиной специального рассмотрения этой группы соединений белок—ДНК в настоящем обзоре.

Известно, что белок р3 необходим для репликации фаговой ДНК. Так, у мутантов фага Ф29 с термолабильным белком р3 наблюдается термочувствительный синтез фаговой ДНК [162]. Трансфекция ДНК перечисленных выше фагов *B. subtilis* оказывается чувствительной к обработке протеолитическими ферментами [155, 163], что объясняется, по-видимому, необходимостью р3-белка для репликации фаговой ДНК, а не способностью ДНК проникать в клетку, поскольку показано, что фаговая ДНК, обработанная протеиназой, способна проникать в клетку и приводить к «спасению маркера» [150]. Большой интерес представляет определение стадии репликации ДНК фага, на которой возникает потребность

в белке рЗ. При исследовании синтеза ДНК мутанта *ts3* фага Ф29 после перехода к пермиссивным условиям через 45 мин после заражения было обнаружено, что синтезируются целые молекулы фаговой ДНК [164]. На этом основании авторы сделали вывод об участии белка рЗ в инициации репликации фаговой ДНК, что кажется очень вероятным, но тем не менее не дает возможности судить о том, является ли белок рЗ праймером.

Данные о падении инфекционности препаратов фаговой ДНК после протеолитической обработки позволяют предположить, что для инициации репликации ДНК необходим белок рЗ, ковалентно связанный с родительской ДНК. Схема репликации аденовирусной ДНК, распространенная на ДНК фагов *B. subtilis*, предполагает участие и вновь синтезированного (дочернего) белка рЗ в репликации ДНК; более того, дочернему белку отводится активная роль в этом процессе: он ковалентно связывает соответствующий нуклеотид, узнает родительский терминальный белок и концевой инвертированный повтор, он (в комплексе с нуклеотидом) служит праймером при инициации репликации вирусной ДНК.

Эти положения были экспериментально проверены следующим образом. При заражении пермиссивных клеток (*B. subtilis su⁻*) мутантом *sus3* фага Ф29 в условиях, когда и родительский, и дочерние белки рЗ активны, в зараженных клетках наблюдалось образование целых молекул дочерней фаговой ДНК. Если этот же эксперимент проводили в условиях, когда синтезируемый белок рЗ в отличие от родительского рЗ-белка является дефектным, ожидаемого прекращения синтеза полной фаговой ДНК не наблюдали. Этот результат означает, что в инициации репликации фаговой ДНК главную роль играет родительский белок рЗ [164]. Чрезвычайно интересен вопрос: возможна ли репликация фаговой ДНК с дефектным родительским белком рЗ в присутствии недефектного дочернего белка рЗ? Имеющиеся на этот счет данные противоречивы [150, 165].

Возникает ряд принципиальных вопросов. Является ли дочерний белок рЗ праймером при инициации репликации фаговой ДНК, или же он не нужен на этой стадии и присоединяется к ДНК несколько позже? Если дочерний белок рЗ — праймер, то почему неактивный белок рЗ может выполнять эту функцию? Если белок рЗ не является праймером, то каков механизм его присоединения к дочерним нитям ДНК? В обоих случаях неясна функция родительского белка рЗ, однако складывается впечатление, что именно родительский белок рЗ играет определяющую роль в процессе инициации репликации фаговой ДНК. Кажется мало вероятным, что родительский белок рЗ служит праймером при инициации репликации, поскольку одна из двух нитей ДНК (та, которая оказывается не связанной с белком рЗ) является во всех отношениях неактивной. Решение этих вопросов должно способствовать пониманию той роли, которую играют ковалентные соединения белок — ДНК в процессе репликации линейных вирусных ДНК.

Кроме участия в репликации фаговой ДНК, белок рЗ, связанный с ДНК фага Ф29, по-видимому, необходим для инкапсидирования фаговой ДНК [165]. Еще одной функцией белка рЗ могло бы быть его взаимодействие с РНК-полимеразой *B. subtilis* или локальное плавление ДНК и связанное с этим изменение мест связывания РНК-полимеразы с фаговой ДНК. Однако оказалось, что присутствие белка рЗ на ДНК никак не сказывается на взаимодействии РНК-полимеразы с ДНК фага Ф29 [166, 167].

III.3. Ковалентные соединения белков А и А* с ДНК бактериофага ФХ 174

Геном бактериофага ФХ 174 представляет собой однонитевую кольцевую ДНК длиной 5386 нуклеотидов, нуклеотидная последовательность которой известна [168]. При репликации фаговой ДНК в качестве одного из промежуточных продуктов образуется двухцепочечная кольцевая сверхскрученная репликативная форма ДНК (РФ1), которая и служит матрицей для синтеза новых молекул РФ1 ДНК и дочерних вирусных плюс-цепей ДНК. Известно, что для синтеза новых плюс-цепей ДНК *in vivo* не-

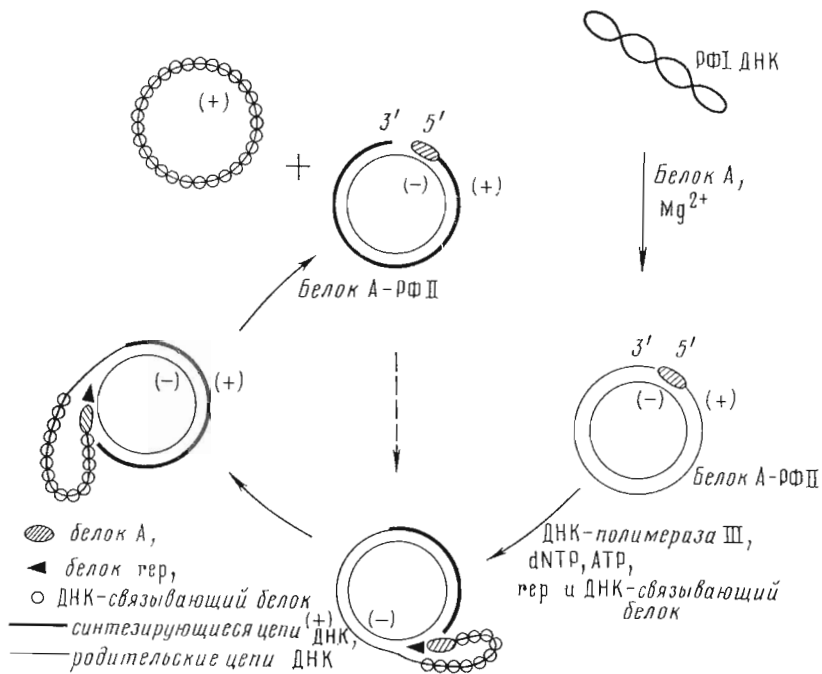


Рис. 4. Схема синтеза плюс-цепи ДНК бактериофага ФХ 174 с участием фагового белка А

обходим вирус-специфический белок А — продукт гена А фага ФХ 174 [169]. Белок А имеет молекулярную массу 59 000 и является ните- и сайт-специфичной эндонуклеазой, вносящей разрыв в плюс-цепь РФИ ДНК в точке начала репликации [169, 170]. Известно, что *in vivo* белок А обладает *cis*-эндонуклеазной активностью по отношению к РФИ ДНК, т. е. не вносит разрыв (и тем самым препятствует репликации) в те молекулы РФИ ДНК, которые несут мутацию в гене белка А [171]. Причина такого действия белка А *in vivo* неизвестна, однако интересно, что *in vitro cis*-действие белка А не наблюдается [172]. Электронно-микроскопическое изучение отдельных стадий репликации РФИ ДНК как *in vivo*, так и *in vitro* привело к созданию модели репликации РФИ ДНК фага ФХ 174 с участием белка А. Согласно этой модели [173, 174] (рис. 4), процесс начинается с внесения белком А разрыва в плюс-цепь РФИ ДНК фага ФХ 174 в точке начала репликации фаговой ДНК и ковалентного связывания белка А с 5'-концевым нуклеотидом плюс-цепи ДНК в месте разрыва. При этом образуется открытая кольцевая двухцепочечная форма ДНК, несущая одиночный разрыв в плюс-цепи (РФИ ДНК) и имеющая ковалентно связанный белок А (комплекс белок А — РФИ ДНК).

При добавлении к комплексу А-белок — РФИ ДНК гер-белка *E. coli*, ДНК-связывающего белка, АТР, ДНК-полимеразы III и четырех дезоксирибонуклеозидтрифосфатов в системе *in vitro* происходит элонгация плюс-нити ДНК с использованием 3'-гидроксильной группы в месте разрыва ДНК А-белком в качестве праймера. Расплетание ДНК-дуплекса и вытеснение родительской плюс-цепи ДНК осуществляется гер-белком с использованием АТР. Предполагается, что гер-белок узнает место начала репликации при взаимодействии со связанным с ДНК А-белком. Репликация РФИ ДНК осуществляется по механизму «катящегося кольца», причем 5'-конец вытесняемой нити с ковалентно связанным А-белком запирается в репликативной вилке, возможно, в результате взаимодействия гер- и А-белков. *In vivo* продукт репликации упаковывается в капсиду по мере вытеснения нити ДНК [175]; в экспериментах *in vitro* вытесненная одноцепочечная плюс-нить ДНК фиксируется ДНК-связывающим белком [174]. В тех случаях, когда примосома после образования двухцепочечной репликативной формы ФХ ДНК остается связанной с РФИ ДНК, она спо-

собна участвовать в образовании комплементарной цепи на вытесняемой нити ДНК, в результате чего образуются новые молекулы РФД ДНК [176]. Фиксация продукта репликации приводит к избирательному образованию лишь плюс-нити фаговой ДНК, необходимой для формирования новых вирусных частиц. После того, как комплекс белков гер и А проходит вокруг всей кольцевой молекулы минус-нити фаговой ДНК, являющейся матрицей для синтезируемой плюс-цепи, ковалентно связанный с ДНК А-белок узнает синтезированную в процессе репликации ДНК последовательность начала репликации и отрезает вытесненную плюс-нить фаговой ДНК. При этом аккумулированная энергия ковалентной связи белок А—ДНК используется для замыкания образовавшейся молекулы ДНК в кольцо (на этом этапе проявляется вторая — лигирующая активность А-белка) с одновременным ковалентным присоединением А-белка к 5'-концевому нуклеотиду в месте разрыва нити ДНК. На рис. 4 приведен гипотетический механизм этого процесса. В результате при образовании каждой новой кольцевой молекулы фаговой ДНК комплекс А-белок — РФД — ДНК регенерируется. Поэтому *in vitro* комплекс А-белок — РФД ДНК способен синтезировать до 15 молекул фаговой ДНК каталитически, т. е. без добавления свободного белка А [174].

Таким образом, А-белку фага ФХ 174 приписываются следующие функции: разрыв вирусной нити ДНК в точке начала репликации; участие в образовании комплекса с гер-белком, помогающего движению репликативной вилки; внесение разрыва во вновь образованный участок начала репликации для высвобождения фаговой ДНК длиной в один геном; лигирование образованного при этом 3'-конца с 5'-концом ДНК, ковалентно связанным с белком А, с образованием кольцевой вирусной молекулы ДНК. Предложенная логичная, но в то же время довольно сложная модель репликации РФД ДНК для своего подтверждения и уточнения требует ответа на целый ряд вопросов. Способен ли белок А связываться с ДНК, и если да, то какова его специфичность? Какая нуклеотидная последовательность узнается А-белком в РФД ДНК фага ФХ 174? Есть ли еще какие-нибудь требования к узнаваемому участку ДНК для внесения разрыва в РФД ДНК? Действительно ли белок А присоединяется ковалентно к 5'-концу разорванной нити ДНК? Способен ли белок А вступать в постулированное взаимодействие с гер-белком? Действительно ли белок А обладает не только нуклеазной, но и лигазной активностью?

Изучение свойств А-белка фага ФХ 174 позволило ответить на многие из этих вопросов и пролило свет на возможные механизмы функционирования ДНК-белкового комплекса. Чрезвычайно полезным оказалось также сравнительное изучение свойств белка А* — белка бактериофага ФХ 174 с молекулярной массой 33 000, кодируемого тем же геномом А, по считываемым с внутреннего инициаторного кодона в той же рамке, что и белок А [177]. Изучение специфичности нековалентного взаимодействия белков А и А* с ДНК показало, что А-белок является в этом смысле высокоспецифичным, связываясь только с РФД ДНК и вирусной одноцепочечной ДНК фага ФХ 174 и близкородственных фагов [172]. Белок А связывается с РФД ДНК фага ФХ 174 в составе мультимерного комплекса, причем с увеличением мольного отношения белка А к РФД ДНК количество молекул белка А, обратимо связывающихся с ДНК, возрастает от 2—3 до 10 [172]. Возможно, образование мультимерного комплекса является причиной того, что для образования комплекса А-белок — РФД ДНК из РФД ДНК белок А требуется в некаталитических и нестехиометрических количествах; максимальная эффективность образования комплекса А-белок — РФД ДНК наблюдается при 10—20-кратных мольных избытках белка А по сравнению с РФД ДНК [172]. В отличие от белка А белок А* обладает способностью связываться с различными двухцепочечными ДНК, и какой-либо специфичности в этом отношении у него не наблюдается [178]. Функция белка А* *in vivo* неизвестна. Предполагается, что этот белок, образуя прочное нековалентное соединение с «хозяйской» ДНК, мешает образованию и движению репликативной вилки и тем самым подавляет репликацию «хозяйской» ДНК [178].

Белки А и А* различаются также по способности и специфичности внесения разрыва в вирусную ДНК. Так, А-белок способен вносить односторонний разрыв в РФД ДНК и плюс-цепь ДНК фага ФХ 174, причем разрыв этот специфичен к точке начала репликации фаговой ДНК [175, 179, 180]. Белок А* не способен переводить РФД ДНК в РФИ ДНК, однако с плюсовой ДНК он взаимодействует и гидролизует ее более чем в 30 местах, хотя и в этом случае предпочтение отдается разрыву в точке начала репликации фаговой ДНК [179, 181]. Таким образом, и по эндонуклеазной активности белок А* менее специфичен по сравнению с белком А.

Для определения нуклеотидной последовательности, узнаваемой А-белком, было проведено сравнение нуклеотидных последовательностей мест разрыва вирусной ДНК при взаимодействии А-белков фагов ФХ 174 и G4 с РФД ДНК родственных фагов ФХ 174, G4 и St-1 и обнаружена удивительная гомология в области мест начала репликации ДНК. Так, 30 нуклеотидов в области разрыва ДНК фагов ФХ 174 и G4 полностью гомологичны [182]; в случае фага St-1 полностью сохраняется участок длиной 10 нуклеотидов: (5') СААСТТG[↓]АТА (3') [183]. Во всех случаях, в том числе и при взаимодействии с плюсовой ДНК, А-белок вносит разрыв между нуклеотидами G и A [182, 183], т. е. между 4305-м и 4306-м нуклеотидом на карте фага ФХ 174 [168] и между 506-м и 507-м нуклеотидом на карте фага G4 [184]. В изящной работе, сделанной на синтетических олигонуклеотидах [185], было показано, что приведенный выше декануклеотид является минимальным при узнавании белком А одноцепочечной ДНК. При анализе нуклеотидных последовательностей в местах разрыва одноцепочечной ДНК фага ФХ 174 белком А* было обнаружено, что кроме приведенных выше последовательностей белок А* способен, хотя и хуже, гидролизовать ДНК в участках, которые очень слабо гомологичны участку начала репликации ДНК. Более того, даже при сохранении частичной гомологии узнаваемых участков ДНК белок А* способен в отдельных случаях расщеплять фосфодиэфирные связи в разных частях этих участков, например (5') ТT[↓]G[↓]A[↓]T (3') [181] (стрелками отмечены места разрывов фосфодиэфирных связей). Таким образом, очевидно, что белок А* имеет меньшую специфичность узнавания участков ДНК, чем белок А. Поскольку белки А и А* являются родственными, предполагается, что за специфичность узнавания ДНК (равно как и за способность взаимодействовать с РФД ДНК) отвечает N-концевой участок белка А, отсутствующий у белка А* [179].

Выяснилось, однако, что для внесения белком А разрыва в двухцепочечную ДНК фага ФХ 174 наличия определенной нуклеотидной последовательности недостаточно. Так, РФИВ ДНК фага (открытая кольцевая ковалентно-замкнутая ДНК) не является субстратом для белка А [186]. Однако обработка РФИВ ДНК ДНК-гиразой, приводящая к образованию сверхспирализованной фаговой ДНК, восстанавливает способность белка А гидролизовать ДНК [186]. Таким образом, для расщепления вирусной ДНК в составе ДНК-дуплекса необходимо наличие сверхспирализации. Отмеченное выше достаточно прочное связывание примосомы с молекулами репликативной формы ДНК способно обеспечить образование сверхспирализованной РФД ДНК без участия ДНК-гиразы. Более того, комплекс примосома — РФД ФХ ДНК является гораздо более эффективным субстратом для белка А по сравнению с РФД ДНК, полученной в результате обработки РФИВ ДНК ДНК-гиразой [176]. Кроме сверхспирализации ДНК для осуществления эндонуклеазной функции белка А необходимо, чтобы узнаваемый белком участок ДНК был А+Т-богатым, фланкированным G+C-богатыми участками [185]. Перечисленные выше экспериментальные данные дают веское основание для заключения, что белок А способен гидролизовать лишь одноцепочечный участок ДНК-дуплекса. Это заставляет предположить наличие у белка А (и отсутствие у белка А*) способности локально плавить двухцепочечную ДНК, поскольку



Рис. 5. Участок плюс-цепи ДНК в молекуле РФД ДНК бактериофага ФХ 174, участвующий во взаимодействии с белком А. Стрелкой показано место разрыва цепи ДНК белком А. ▲ — участки, нуклеотидные замены в которых не препятствуют внесению белком А разрыва в плюс-цепь ДНК. △ — нуклеотидные замены в этих местах приводят к неспособности белка А вносить специфический разрыв в ДНК

ку нет оснований считать, что в РФД ДНК участок начала репликации является расплавленным.

Однако и соблюдения всех перечисленных требований к ДНК недостаточно для внесения белком А разрыва в двухнитевую молекулу ДНК. Участок начала репликации РФД ДНК фага ФХ 174 длиной 14–20 нуклеотидных остатков (4299–4318 на карте ФХ ДНК) был клонирован в плазмиде рАСУС 177. Выяснилось, что сверхспирализованная плазмидная ДНК, несущая такую вставку, не гидролизуется белком А и не является матрицей для синтеза плюс-цепи ДНК *in vitro*, несмотря на то что отвечает всем перечисленным требованиям [187] (в то же время соответствующий одностранный декануклеотид, 4299–4308 на карте ФХ ДНК, белком А гидролизовался — см. выше [185]). Для объяснения этого результата предложена модель, детализирующая процессы, происходящие при взаимодействии А-белка с РФД ФХ ДНК. Согласно этой модели (рис. 5), в участке начала репликации РФД ФХ ДНК можно выделить три района: «ключевую» область, область узнавания и промежуточную область, нуклеотидные замены в которой не нарушают нуклеиново-белкового взаимодействия. В молекуле сверхспирализованной РФД ФХ ДНК белок узнает «ключевую» последовательность и связывается с ней, вызывая локальную денатурацию ДНК в области узнавания. В результате ассоциированный с ДНК белок А получает возможность внести разрыв в вирусную нить ДНК в положении 4305, что является сигналом к началу репликации фаговой ДНК [187]. В настоящее время предпринимаются попытки определить границы «ключевой» области ДНК и тем самым подтвердить предложенную схему взаимодействия А-белка с РФД ДНК ФХ 174.

Итак, белки А и А* способны узнавать определенные сигналы и вносить разрыв в плюс-нить фаговой ДНК. При этом оказалось, что белки А и А* ковалентно присоединяются к 5'-концу разорванной нити ДНК, оставляя свободным 3'-конец той же молекулы, как и предполагается в модели, изображенной на рис. 4. Образование ковалентного соединения между белком А и нитью ДНК в составе РФД ДНК доказано как *in vitro*, так и *in vivo* [175, 188]. Интересно, что если в системе *in vitro* к РФД ДНК фага добавить оба белка (А и А*), то часть молекул РФД ДНК будет содержать ковалентно-связанный А* [189], хотя неизвестно, является ли такое соединение функционально активным. При гидролизе белками А и А* одностранный фаговой ДНК *in vitro* белки также оказываются ковалентно присоединенными к образовавшемуся 5'-концевому нуклеотиду ДНК [190, 191]. Тип связи между белком и ДНК не установлен. Известно лишь, что связь устойчива к обработке 0,2 М NaOH [188].

Отдельно следует остановиться на предполагаемом взаимодействии белка А с гер-белком. Показано [192], что гер- и А-белки легко образуют между собой комплекс. Можно предположить, что при репликации РФД ДНК взаимодействие А- и гер-белков приводит к внедрению 5'-конца родительской плюс-нити в репликативную вилку, что может способствовать вытеснению этой нити из дуплекса (см. рис. 4). Уместно отметить, что на этой стадии могла бы быть полезной гипотетическая способность белка А плавить ДНК.

Особый интерес представляет постулированная для белка А лигирующая активность. В пользу правильности такого предположения свидетельствуют следующие данные.

Во-первых, при взаимодействии РФИ ДНК фага ФХ 174 с небольшими количествами белка А наблюдается образование не только РФИ ДНК, но и РФИВ ДНК [172]. Образование РФИВ ДНК из РФИ ДНК предполагает внесение разрыва в ДНК, сгибание сверхвитков и последующее лигирование разорванной нити ДНК.

Во-вторых, если *in vitro* в реакционную смесь, содержащую РФИ ДНК и белки А или А', вместо ионов Mg^{2+} добавить ионы Mn^{2+} , то наряду с образовавшимся соединением А-белок-РФИ ДНК и А'-белок-РФИ ДНК наблюдается образование РФИВ ДНК и, кроме того, А'-белок-РФИИ ДНК (РФИИ ДНК — линейная двухцепочечная молекула ДНК) [193], причем места разрыва ДНК в присутствии ионов Mg^{2+} или Mn^{2+} остаются одними и теми же. Изучение структуры соединения А'-белок-РФИИ ДНК показало, что белок А' связан с 5'-концом лишь одной нити ДНК линейного дуплекса, в то время как на другом конце дуплекса 5'- и 3'-концы комплементарных молекул ДНК соединены ковалентно [194]. Для объяснения механизма образования такой структуры предложена модель с использованием как эндонуклеазной, так и лигирующей активности белка А', ковалентно связанного с одной из нитей фаговой ДНК дуплекса [194]. Если предложенный механизм действительно реализуется, то это указывает на возможность участия белка А' (и А-белка) в образовании дочерних кольцевых молекул фаговой ДНК с одновременным регенерированием соединения А-белок-РФИ ДНК, как это изображено на рис. 4.

В-третьих, при взаимодействии белка А' с одионитевой фаговой ДНК наблюдается, как описано выше, образование линейных молекул ДНК с ковалентно-связанным белком А' [191]. Если к таким соединениям А'-белок-ДНК добавить ионы Mg^{2+} , то образуются кольцевые ковалентно-замкнутые молекулы ДНК [191], по-видимому, за счет лигирования концов молекул ДНК белком А'.

Рассмотренные примеры подтверждают наличие у белка А двух ферментативных активностей — эндонуклеазной и лигирующей. Такими же активностями обладают ДНК-топоизомеразы — ферменты, изменяющие число сверхвитков в ДНК. Аналогия между А-белком фага ФХ 174 и топоизомеразой (особенно ω -белком *E. coli*), возможно, имеет серьезные основания. Интересно, что в качестве промежуточного соединения при действии топоизомераз на ДНК образуются ковалентные соединения белка с ДНК, причем связь между топоизомеразой и ДНК является фосфодиэфирной. В ее образовании участвует оксигруппа тирозина соответствующего белка [195]. В любом случае взаимодействие А-белка с РФИ ДНК фага ФХ 174 имеет одно принципиальное отличие: белок А является сайт-специфичной эндонуклеазой.

Образование ковалентного соединения белок-ДНК при репликации РФИ ДНК бактериофага ФХ 174 не является исключительным свойством, присущим только фагу ФХ 174. Показано, что аналогичную роль играют белки А и А' родственного бактериофага G4 [196]. Более того, наличие высокомолекулярных последовательностей в области начала репликации РФИ ДНК целого ряда бактериофагов (фагов G4, St-1, $\alpha 3$, U3, G14), узнаваемых высокоспецифичной нуклеазой — белком А фага ФХ 174 [183], свидетельствует о том, что во всех этих случаях репликация фаговой ДНК может осуществляться с участием соответствующего фагового белка с образованием ковалентных нуклеино-белковых соединений. Таким образом, описанный выше процесс носит общий характер, т. е. представляет собой новый механизм инициации синтеза ДНК, присущий группе мелких бактериофагов с одноцепочечной кольцевой ДНК.

III.4. Ковалентные соединения белков с ДНК некоторых вирусов животных

Рассмотрим ковалентные соединения белок — ДНК некоторых вирусов, которые по ряду признаков напоминают более детально изученные ковалентные соединения (см. выше). Недостаток экспериментального ма-

териала не позволяет объединить описанные ниже ковалентные соединения белок — ДНК с какой-либо группой хорошо изученных ковалентных соединений белок — ДНК или выделить их в особую группу, равно как и судить о распространенности и функциональной значимости этих соединений. Поэтому они будут рассмотрены лишь в самых общих чертах с целью расширения представления о природных вирусных ковалентных соединениях белок — ДНК.

III.4.a. Ковалентное соединение белка с ДНК парвовируса Н-1

Геном вируса Н-1 представляет собой линейную одноцепочечную ДНК с молекулярной массой $1,6 \cdot 10^6$. Репликация вирусной ДНК включает в себя стадию образования двухцепочечной репликативной формы (РФ) ДНК. Имеются данные, что с обоими 5'-концами молекул ДНК в составе РФ ДНК ковалентно связаны белки с молекулярной массой 60 000—70 000. Возможно, белки, связанные с комплементарными нитями ДНК, различаются [197]. Неизвестно, являются ли эти белки клеточными или вирус-специфическими. Относительно наличия белка, ковалентно связанного с вирионной ДНК вируса Н-1, однозначных данных нет.

Обращает на себя внимание следующее обстоятельство: концы вирусной ДНК имеют шпильчатую структуру, которая, как предполагается, служит праймером для репликации вирусной ДНК. Если это предположение верно, то наличие белка на 5'-концах РФ ДНК вируса Н-1 не связано с необходимостью формирования праймера для репликации ДНК. В этом может состоять принципиальное отличие описанного соединения белок — ДНК от аналогичных (на первый взгляд) соединений аденовирусов и бактериофагов *B. subtilis*.

III.4.b. Ковалентное соединение белка с ДНК вируса SV40

При выделении ДНК вируса SV40 из вирусных частиц в присутствии додецилсульфата натрия и дигитотреита происходит разрыв в одной из цепей вирусной ковалентно-замкнутой кольцевой ДНК и ковалентное присоединение к одному из концов разорванной нити ДНК белка с молекулярной массой 140 000—300 000 [198, 199]. Положения мест разрыва ДНК варьируют, но предпочтение отдается области начала репликации вирусной ДНК [199]. Места разрыва в обеих нитях вирусной ДНК не совпадают, хотя и расположены недалеко друг от друга.

Несмотря на то что эти данные представляются весьма интересными, их недостаточно для того, чтобы сделать заключение о возможной функциональной значимости образующегося ковалентного соединения белок — ДНК; более того, может вызывать сомнение «нативность» такого соединения.

III.4.v. Ковалентное соединение белка с ДНК вируса гепатита В

Вирионная ДНК вируса гепатита В представляет собой кольцевую молекулу ДНК длиной 3200 нуклеотидов, являющуюся частично двухцепочечной. ДНК состоит из длинной нити (*a*), имеющей разрыв в уникальной точке, и короткой (*b*) (1700—2800 нуклеотидов), комплементарной участку разрыва нити *a*, что и позволяет образоваться кольцевой структуре. С 5'-концевым фрагментом нити *a* вирионной ДНК вируса гепатита В ковалентно связан белок [200]. Описанное ковалентное соединение белок — ДНК не похоже ни на одно из рассмотренных выше соединений. Механизм его образования и функция ковалентно связанного белка неясны. Одним из возможных предположений является (возникшая по аналогии с А-белком фага ФХ 174) идея об участии белка — высокоспецифичной эндонуклеазы — в процессе репликации вирусной ДНК.

IV. Заключение

В обзоре рассмотрены известные в настоящее время природные ковалентные соединения вирусных белков и нуклеиновых кислот. Изучение этих соединений позволяет заключить, что ковалентные соединения бел-

ков с нуклеиновыми кислотами не являются редкими и непонятными исключениями, а, по-видимому, являются важным свойством живой природы. Существование нерассмотренных в данном обзоре ковалентных соединений белков и ДНК невирусной природы подтверждает широкую распространенность этого специфического типа нуклеиново-белковых взаимодействий (см. обзор [201]).

С точки зрения изучения структуры вирусных ковалентных нуклеиново-белковых соединений безусловно интересным представляется тот факт, что во всех изученных случаях белок оказывается ковалентно связанным с 5'-концом молекулы вирусной нуклеиновой кислоты и связь между белком и нуклеиновой кислотой является фосфодиэфирной.

Функции описанных соединений в большинстве случаев неясны, однако обнаружение ковалентно связанных вирусных белков в реплицирующихся структурах как РНК, так и ДНК указывает на их возможную роль в процессе воспроизведения генетической информации, в частности, на стадии инициации репликации нуклеиновых кислот. В то же время способы, которыми достигается решение этой задачи, могут существенно различаться у разных групп вирусов. Так, например, проблема формирования праймера при инициации репликации РНК пикорнавирусов и ДНК аденовирусов решается (в рамках существующих представлений) очень похожим образом. В то же время аналогичная проблема в случае бактериофага ФХ 174 и родственных фагов решается принципиально другим способом.

Важно отметить, что репликация вирусных нуклеиновых кислот, по-видимому, является не единственным процессом, нуждающимся в наличии белка, ковалентно присоединенного к нуклеиновой кислоте. Так, при трансляции РНК пикорнавирусов белок VPg, возможно, способен оказывать регуляторное воздействие на этот процесс. В большинстве рассмотренных примеров вполне реальной также выглядит возможность использования ковалентно связанного белка для упаковки вирусной нуклеиновой кислоты в состав вирусной частицы. Исследование ковалентных соединений вирусных белков и нуклеиновых кислот является, таким образом, важным этапом изучения процессов репликации вирусов.

Автор приносит благодарность А. А. Богданову и М. Д. Балакиревой за обсуждение обзора и критические замечания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lee Y. F., Nomoto A., Wimmer E. *Progr. Nucl. Acid Res. Mol. Biol.*, 1976, v. 19, p. 89-96.
2. Lee Y. F., Nomoto A., Detjen B., Wimmer E. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1977, v. 74, p. 59-63.
3. Flanagan J. B., Pettersson R. F., Ambros V., Hewlett M. J., Baltimore D. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1977, v. 74, p. 961-965.
4. Yogo Y., Wimmer E. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1972, v. 69, p. 1877-1882.
5. Ahlquist P., Kaesberg P. *Nucl. Acids Res.*, 1979, v. 7, p. 1195-1204.
6. Fernandez-Munoz R., Dadrach Y. E. *J. Virol.*, 1976, v. 48, p. 719-726.
7. Nomoto A., Lee Y. F., Wimmer E. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1976, v. 73, p. 375-380.
8. Frisby D., Eaton M., Fellner P. *Nucl. Acids Res.*, 1976, v. 3, p. 2771-2787.
9. Grubman M. J., Bachrach H. L. *Virology*, 1879, v. 98, p. 466-470.
10. Hewlett M. J., Rose J. K., Baltimore D. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1976, v. 73, p. 327-330.
11. Fernandez-Munoz R., Lavi U. *J. Virol.*, 1977, v. 21, p. 820-824.
12. Golini F., Nomoto A., Wimmer E. *Virology*, 1978, v. 89, p. 112-118.
13. Babich A., Wimmer E., Toyoda H., Nomoto A. *Intervirology*, 1980, v. 13, p. 192-199.
14. Nomoto A., Kajigaya S., Suzuki K., Imura N. *J. Gen. Virol.*, 1979, v. 45, p. 107-117.
15. Hruby D. E., Roberts W. K. *J. Virol.*, 1978, v. 25, p. 413-415.
16. Sangar D. V., Rowlands D. J., Harris T. J. R., Brown F. *Nature*, 1977, v. 268, p. 648-650.
17. Perez-Bercoff P., Gander M. *FEBS Lett.*, 1978, v. 96, p. 306-312.
18. Дрыгин Ю. Ф., Варпанетян А. Б., Чумаков К. М. *Молекулярн. биология*, 1979, т. 13, с. 777-787.
19. Nomoto A., Detjen B., Pozzatti R., Wimmer E. *Nature*, 1977, v. 268, p. 208-213.
20. Wu M., Davidson M., Wimmer E. *Nucl. Acids Res.*, 1978, v. 5, p. 4711-4723.
21. Richard O. C., Ehrenfeld E., Manning J. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1979, v. 76, p. 676-680.

22. *Pettersson R. F., Flanagan J. B., Rose J. K., Baltimore D.* Nature, 1977, v. 268, p. 270-272.
23. *Nomoto A., Kitamura N., Golini F., Wimmer E.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1977, v. 74, p. 5345-5349.
24. *Shabarova Z. A.* Progr. Nucl. Acid. Res. Mol. Biol., 1970, v. 10, p. 145-181.
25. *Wimmer E.* In: The molecular biology of picornaviruses. /Ed. Perez-Bercoff R. New York - London: Plenum Publishing Co. Ltd., 1979, p. 175-190.
26. *Rothberg P. G., Harris T. J. R., Nomoto A., Wimmer E.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1978, v. 75, p. 4868-4872.
27. *Ambros V., Baltimore D. J.* Biol. Chem., 1978, v. 253, p. 5263-5266.
28. *Vartanegyan A. B., Drygin Yu. F., Chumakov K. M., Bogdanov A. A.* Nucl. Acids Res., 1980, v. 8, p. 3729-3741.
29. *Вартапетян А. Б., Дрыгин Ю. Ф., Чумаков К. М.* Биоорган. химия, 1979, т. 5, с. 1876-1878.
30. *Holzer H., Wohlueter R.* In: Advances in enzyme regulation. /Ed. Weber G. Oxford: Pergamon Press, 1972, v. 10, p. 121-132.
31. *Kitamura N., Adler C. J., Rothberg P. G., Martinko J., Nathenson S. G., Wimmer E.* Cell, 1980, v. 21, p. 295-302.
32. *Kitamura N., Semler B. L., Rothberg P. G., Larsen G. R., Adler C. J., Dorner A. J., Emini E. A., Hanecak R., Lee J. J., van der Werf S., Anderson C. W., Wimmer E.* Nature, 1981, v. 291, p. 547-553.
33. *Semler B. L., Anderson C. W., Kitamura N., Rothberg P. G., Wishart W. L., Wimmer E.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1981, v. 78, p. 3464-3468.
34. *King A. M. Q., Sangar D. V., Harris T. J. R., Brown F. J.* Virol., 1980, v. 34, p. 627-634.
35. *Richards O. C., Hey T. D., Ehrenfeld E. J.* Virol., 1981, v. 38, p. 863-871.
36. *Вартапетян А. Б.* Структура ковалентного соединения белков VPg с вирусной РНК вируса энцефаломыокардита: Автореф. дис. ... канд. хим. наук / М.: МГУ, 1981, с. 18.
37. *Nomoto A., Toyoda H., Imira N.* Virology, 1981, v. 113, p. 54-63.
38. *Hewlett M. J., Florkiewicz R. Z.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1980, v. 77, p. 303-307.
39. *Ambros V., Pettersson R. F., Baltimore D. J.* Cell, 1978, v. 15, p. 1439-1446.
40. *Ambros V., Baltimore D. J.* Biol. Chem., 1980, v. 255, p. 6738-6744.
41. *Sangar D. V., Bryant J., Harris T. J. R., Brown F., Rowlands D. J. J.* Virol., 1981, v. 39, p. 67-74.
42. *Chumakov K. M., Agol V. I.* Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1976, v. 76, p. 551-557.
43. *Perez-Bercoff R., Gander W.* Virology, 1977, v. 80, p. 426-429.
44. *Rowlands D. J., Harris T. J. R., Brown F. J.* Virol., 1978, v. 26, p. 335-343.
45. *Black D. N., Stephensen P., Rowlands D. J., Brown F.* Nucl. Acids Res., 1979, v. 6, p. 2381-2390.
46. *Чумаков К. М., Чичкова Н. В., Агола В. И.* Докл. АН СССР, 1979, т. 246, с. 994-996.
47. *Sangar D. V., Black D. N., Rowlands D. J., Harris T. J. R., Brown F. J.* Virol., 1980, v. 33, p. 59-68.
48. *Rose J. K., Trachsel H., Leong K., Baltimore D.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1978, v. 75, p. 2732-2736.
49. *Sangar D. V. J.* Gen. Virol., 1979, v. 45, p. 10-13.
50. *Golini F., Semler B. L., Dorner A. J., Wimmer E.* Nature, 1980, v. 287, p. 600-603.
51. *Girard M. J.* Virol., 1969, v. 3, p. 376-384.
52. *Pettersson R. F., Ambros V., Baltimore D. J.* Virol., 1978, v. 27, p. 357-365.
53. *Thornton G. B., Robberson D. L., Arlinghaus R. B. J.* Virol., 1981, v. 39, p. 228-237.
54. *Baltimore D., Ambros V., Flanagan J., Pettersson R., Rose J.* Abstracts of the 4 International Congress for Virology, the Netherlands, 1978, p. 62-63.
55. *Dmitrieva T. M., Shcheglova M. V., Agol V. I.* Virology, 1979, v. 92, p. 271-277.
56. *Dasgupta A., Zabel P., Baltimore D.* Cell, 1980, v. 19, p. 423-429.
57. *Harris T. J. R.* Nucl. Acids Res., 1979, v. 7, p. 1765-1785.
58. *Вартапетян А. Б.* Вестн. Моск. ун-та, сер. 2. Химия, 1980, т. 21, с. 89-91.
59. *Yogo Y., Teng Mh., Wimmer E.* Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1974, v. 61, p. 1101-1109.
60. *Spector D. H., Villa-Komaroff L., Baltimore D.* Cell, 1975, v. 6, p. 41-44.
61. *Baiz B., Grubman M. J., Bachrach H. L.* Virology, 1979, v. 98, p. 480-483.
62. *Кушин Е. В., Агола В. И.* Успехи соврем. биологии, 1980, т. 89, с. 341-359.
63. *Dorner A. J., Rothberg P. G., Wimmer E.* FEBS Lett., 1981, v. 132, p. 219-223.
64. *Butterworth B. E., Korant B. D. J.* Virol., 1974, v. 14, p. 282-291.
65. *Lundquist R. E., Ehrenfeld E., Maizel J. V.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1974, v. 71, p. 4773-4777.
66. *Van Dyke T. A., Flanagan J. B. J.* Virol., 1980, v. 35, p. 732-740.
67. *Ethchison D., Ehrenfeld E.* Virology, 1980, v. 107, p. 135-153.
68. *Palmenberg A. C., Pallansch M. A., Rueckert R. R. J.* Virol., 1979, v. 32, p. 770-778.
69. *Svitkin Yu. V., Gorbalenya A. E., Kazachkov Yu. A., Agol V. I.* FEBS Lett., 1979, v. 108, p. 6-9.
70. *Pallansch M. A., Kew O. M., Palmenberg A. C., Golini F., Wimmer E., Rueckert R. R. J.* Virol., 1980, v. 35, p. 414-419.
71. *Rothberg P. G., Adler C. J., Kitamura N., Wimmer E.* In: Biosynthesis, modification,

- and processing of cellular and viral polyproteins / Eds Koch G., Fichter D. N. Y.: Acad. Press, 1980, p. 309-319.
72. *Palmenberg A. C., Rueckert R. R.* J. Virol., 1982, v. 41, p. 244-249.
 73. *Larsen G. R., Dorner A. J., Harris T. J. R., Wimmer E.* Nucl. Acids Res., 1980, v. 8, p. 1217-1229.
 74. *Dasgupta A., Baron M. H., Baltimore D.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1979, v. 76, p. 2679-2683.
 75. *Klootwijk J., Klein I., Zabel P., Van Kammen A.* Cell, 1977, v. 11, p. 73-82.
 76. *Stanley J., Rottler P., Davies J. W., Zabel P., Van Kammen A.* Nucl. Acids Res., 1978, v. 5, p. 4505-4522.
 77. *Daubert S. D., Bruening G.* Virology, 1979, v. 98, p. 246-250.
 78. *Harrison B. D., Barker H. J.* Gen. Virol., 1978, v. 40, p. 711-715.
 79. *Mayo M. A., Barker H., Harrison B. D.* J. Gen. Virol., 1979, v. 43, p. 735-740.
 80. *Robinson D. J., Barker H., Harrison B. D., Mayo M. A.* J. Gen. Virol., 1980, v. 51, p. 317-326.
 81. *Daubert S. D., Bruening G., Najarian R. C.* Eur. J. Biochem., 1978, v. 92, p. 45-57.
 82. *Chu P. W. G., Boccardo G., Francki R. I. B.* Virology, 1981, v. 109, p. 428-430.
 83. *Goldbach R., Rezelman G., Van Kammen A.* Nature, 1980, v. 286, p. 297-300.
 84. *Stanley J., Goldbach R., Van Kammen A.* Virology, 1980, v. 106, p. 180-182.
 85. *Hari V.* Virology, 1981, v. 112, p. 391-399.
 86. *Burroughs J. N., Brown F. J.* Gen. Virol., 1978, v. 41, p. 443-446.
 87. *Schaffer F. L., Ehresmann D. W., Fretz M. K., Socrgel M. E.* J. Gen. Virol., 1980, v. 47, p. 215-220.
 88. *Ghosh A., Dasgupta R., Salerno-Rife T., Rutgers T., Kaesberg P.* Nucl. Acids Res., 1979, v. 7, p. 2137-2146.
 89. *Mang K., Ghosh A., Kaesberg P.* Virology, 1982, v. 116, p. 264-274.
 90. *Ghosh A., Rutgers T., Ke-qiang M., Kaesberg P. J.* Virol., 1981, v. 39, p. 87-92.
 91. *Garon C. F., Berry K. W., Rose J. A.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1972, v. 69, p. 2391-2395.
 92. *Tohen A., Alestrom P., Pettersson U.* Cell, 1979, v. 17, p. 705-713.
 93. *Padmanabhan R., Raje, Padmanabhan V., Byrnes B. W.* Feder. Proc., 1977, v. 36, p. 740.
 94. *Ariga H., Shimojo H., Hidaka S., Miura K.* FEBS Lett., 1979, v. 107, p. 355-358.
 95. *Robinson A. J., Younghusband H. B., Bellett A. J. D.* Virology, 1973, v. 456, p. 54-69.
 96. *Robinson A. J., Bellett A. J. D.* Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 1974, v. 39, p. 523-531.
 97. *Keegstra W., Van Wiclink P. S., Sussenbach J. S.* Virology, 1977, v. 76, p. 444-447.
 98. *Sharp P. A., Moore C., Haverty J. L.* Virology, 1976, v. 75, p. 442-456.
 99. *Carusi E. A.* Virology, 1977, v. 76, p. 380-394.
 100. *Rekosh D. M. K., Russell W. C., Bellett A. J. D., Robinson A. J.* Cell, 1977, v. 11, p. 283-295.
 101. *Padmanabhan R., Padmanabhan R. V.* Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1977, v. 75, p. 955-964.
 102. *Green M., Brackmann K., Wold W. S. M., Cartas M., Thornton H., Elder J. H.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1979, v. 76, p. 4380-4384.
 103. *Naroditsky B. S., Kalinina T. I., Goldberg E. Z., Borovic A. S., Karamov E. V., Tikchonenko T. I.* Biochim. et biophys. acta, 1980, v. 606, p. 214-227.
 104. *Estes M. K. J.* Virol., 1978, v. 25, p. 917-922.
 105. *Naroditsky B. S., Zavizion B. A., Karamov E. V., Tikchonenko T. I.* Nucl. Acids Res., 1978, v. 5, p. 99-1011.
 106. *Денисова Т. С., Гибадуллин П. А., Ситников Б. С., Сенкевич Т. Г., Медведкина О. А.* Молекулярн. биология, 1980, т. 14, с. 708-720.
 107. *Dimitrov D. H., Dubytchev A. G., Naroditsky B. S., Dreizin R. S., Tikchonenko T. I.* J. Gen. Virol., 1979, v. 44, p. 69-80.
 108. *Darai G., Matz B., Flügel R. M., Grafe A., Gelderblom H., Delius H.* Virology, 1980, v. 104, p. 122-138.
 109. *Larsen S. H., Nathans D.* Virology, 1977, v. 82, p. 182-195.
 110. *Temple M., Antoine G., Delius H., Stahl S., Winnacker E. L.* Virology, 1981, v. 109, p. 1-12.
 111. *Straus S. E., Sergeant A., Tigges M. A., Ruskas H. J. J.* Virol., 1979, v. 29, p. 828-832.
 112. *Stillman B. W., Bellett A. J. D.* Virology, 1979, v. 93, p. 69-79.
 113. *Girard M., Bouche J. P., Marty L., Revet B., Berthelot N.* Virology, 1977, v. 83, p. 34-55.
 114. *Robinson A. J., Bodnar J. W., Coombs D. H., Pearson G. D.* Virology, 1979, v. 96, p. 143-158.
 115. *Van Wiclink P. S., Naaktgeboren N., Sussenbach J. S.* Biochim. et biophys. acta, 1979, v. 563, p. 89-99.
 116. *Yamashita T., Arens M., Green M. J.* Virol., 1979, v. 30, p. 497-507.
 117. *Stillman B. W. J.* Virol., 1981, v. 37, p. 139-147.
 118. *Horwitz H. S., Ariga H.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1981, v. 78, p. 1476-1480.
 119. *Challberg M. D., Desiderio S. V., Kelly T. J., Jr.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1980, v. 77, p. 5105-5109.
 120. *Ikeda J. E., Enomoto T., Hurvitz J.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1981, v. 78, p. 884-888.

121. *Stillman B. W., Lewis J. B., Chow L. T., Mathews M. B., Smart J. E.* Cell, 1981, v. 23, p. 497-508.
122. *Green M., Wold W. S. M., Brackmann K. H., Cartas M. A. J.* Virology, 1979, v. 31, p. 836-840.
123. *Harter M. L., Lewis J. B., Anderson C. W. J.* Virology, 1979, v. 31, p. 823-835.
124. *Rekosh D. J.* Virology, 1981, v. 40, p. 329-333.
125. *Desiderio S. V., Kelly T. J., Jr.* J. Mol. Biol., 1981, v. 145, p. 319-337.
126. *Roninson I., Padmanabhan R.* Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1980, v. 94, p. 398-405.
127. *Юодка Б. А., Савельев В. П., Шабарова З. А., Прокофьев М. А.* Биохимия, 1968, т. 33, с. 907-915.
128. *Юодка Б. А., Саснаускене С. И.* Химия природн. соедин., 1974, т. 2, с. 216-220.
129. *Fütterer J., Winnacker E. L.* Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 1979, v. 360, p. 262-263.
130. *Shinagawa M., Padmanabhan R. V., Padmanabhan R. J.* Gen. Virology, 1979, v. 45, p. 519-525.
131. *Coombs D. H., Pearsom G. D.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1978, v. 75, p. 5291-5295.
132. *Chinnadurai G., Chinnadurai Sh., Green M., J.* Virology, 1978, v. 26, p. 195-199.
133. *Ponomareva T. I., Grodnitskaya N. A., Goldberg E. E., Chaplygina N. M., Naroditsky B. S., Tikhonenko T. I.* Nucl. Acids Res., 1979, v. 6, p. 3119-3131.
134. *Kelly T. J., Jr., Lechner R. L.* Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 1978, v. 43, p. 724-728.
135. *Challberg M. D., Kelly T. J., Jr.* J. Mol. Biol., 1979, v. 135, p. 999-1012.
136. *Challberg M. D., Kelly T. J., Jr.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1979, v. 76, p. 655-659.
137. *Stillman B. W., Bellett A. J. D., Robinson A. J.* Nature, 1977, v. 269, p. 723-725.
138. *Pincus S., Robertson W., Rekosh D.* Nucl. Acids Res., 1981, v. 9, p. 4919-4938.
139. *Lichy J. H., Hurwitz M. S., Hurwitz J.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1981, v. 78, p. 2678-2682.
140. *Enomoto T., Lichy J. H., Ikeda J. E., Hurwitz J.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1981, v. 78, p. 6779-6783.
141. *Challberg M. D., Ostrove J. M., Kelly T. J., Jr.* J. Virology, 1982, v. 41, p. 265-270.
142. *Dunsworth M., Schell R. E., Berk A. J.* Nucl. Acids Res., 1980, v. 8, p. 543-554.
143. *Salas M., Vinuela E.* Trends in Biochem. Sci., 1980, v. 5, p. 191-193.
144. *Challberg M. D., Kelly T. J., Jr.* J. Virology, 1981, v. 38, p. 272-277.
145. *Yoshikawa H., Friedman T., Ito J.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1981, v. 78, p. 1336-1340.
146. *Escarmis C., Salas M.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1981, v. 78, p. 1446-1450.
147. *Ortin J., Vinuela E., Salas M., Vasquez C.* Nature New Biol., 1971, v. 234, p. 275-277.
148. *Yehle C. O. J.* Virology, 1978, v. 27, p. 776-783.
149. *Harding N. E., Ito J., David G. S.* Virology, 1978, v. 84, p. 279-292.
150. *Salas M., Mellado R. P., Vinuela E., Sogo J. M. J.* J. Mol. Biol., 1978, v. 119, p. 269-291.
151. *Ito J.* J. Virology, 1978, v. 28, p. 895-904.
152. *Yoshikawa H., Ito J.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1981, v. 78, p. 2596-2600.
153. *Sogo J. M., Garcia J. A., Penalva M. A., Salas M.* Virology, 1982, v. 116, p. 1-18.
154. *Hermoso J. M., Salas M.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1980, v. 77, p. 6425-6428.
155. *Arwert F., Venema G. J.* Virology, 1974, v. 13, p. 584-589.
156. *Arnberg A. C., Arwert F. J.* Virology, 1976, v. 18, p. 783.
157. *Kawamura F., Ito J.* Virology, 1977, v. 83, p. 233-245.
158. *Thomas C. A., Jr., Saigo K., McLeod E., Ito J.* Analyt. Biochem., 1979, v. 93, p. 158-166.
159. *Harding N. E., Ito J.* Virology, 1976, v. 73, p. 389-401.
160. *Inciarte M. R., Lazaro J. M., Salas M., Vinuela E.* Virology, 1976, v. 74, p. 314-323.
161. *Inciarte M. R., Salas M., Sogo J. M. J.* Virology, 1980, v. 34, p. 187-199.
162. *Yanofsky S., Kawamura F., Ito J.* Nature, 1976, v. 259, p. 60-63.
163. *Hirokawa H.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1972, v. 69, p. 1555-1559.
164. *Mellado R. P., Penalva M. A., Inciarte M. R., Salas M.* Virology, 1980, v. 104, p. 84-96.
165. *Bjornsti M. A., Reilly B. E., Anderson D. L. J.* Virology, 1982, v. 41, p. 508-517.
166. *Sogo J. M., Rodeno P., Koller Th., Vinuela E., Salas M.* Nucl. Acids Res., 1979, v. 7, p. 107-120.
167. *Sogo J. M., Inciarte M. R., Correl J., Vinuela E., Salas M. J.* Mol. Biol., 1979, v. 127, p. 411-436.
168. *Sanger F., Coulson A. R., Friedman T., Air G. M., Barrell B. G., Brown N. L., Fiddes J. C., Hutchison C. A., Stocombe P. M., Smith M. J.* Mol. Biol., 1978, v. 125, p. 225-246.
169. *Francke B., Ray D. S. J.* Mol. Biol., 1971, v. 61, p. 565-586.
170. *Ikeda J. E., Judelevich A., Hurwitz J.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1976, v. 73, p. 2669-2673.
171. *Tessman E. S. J.* Mol. Biol., 1966, v. 17, p. 218-236.
172. *Ikeda J. E., Yudelevich A., Shimamoto N., Hurwitz J. J.* Biol. Chem., 1979, v. 254, p. 9416-9428.
173. *Scott J. F., Eisenberg Sh., Bertsh L. L., Kornberg A.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1977 v. 74, p. 193-197.

174. Eisenberg Sh., Griffith J., Kornberg A. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1977, v. 74, p. 3198-3202.
175. Koths K., Dressler D. J. Biol. Chem., 1980, v. 255, p. 4328-4338.
176. Low R. L., Arai K., Kornberg A. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1981, v. 78, p. 1436-1440.
177. Linney E., Hayashi M. Nature New Biol., 1979, v. 245, p. 6-8.
178. Eisenberg S., Ascarelli R. Nucl. Acids Res., 1981, v. 9, p. 1991-2002.
179. Langeveld S. A., van Mansfeld A. D. M., de Winter J. M., Weisbeck P. J. Nucl. Acids Res., 1979, v. 7, p. 2177-2188.
180. Langeveld S. A., van Mansfeld A. D. M., Baas P. D., Jansz H. S., van Arkel G. A., Weisbeck P. J. Nature, 1978, v. 271, p. 417-420.
181. Langeveld S. A., van Mansfeld A. D. M., van der Ende A., van der Pol J. H., van Arkel G. A., Weisbeck P. J. Nucl. Acids Res., 1981, v. 9, p. 545-562.
182. van Mansfeld A. D. M., Langeveld S. A., Weisbeck P. J., Baas P. D., van Arkel G. A., Lansz H. S. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 1979, v. 43, p. 331-384.
183. Heidekamp F., Langeveld S. A., Baas P. D., Lansz H. S. Nucl. Acids Res., 1980, v. 8, p. 2009-2021.
184. Godson G. N., Barrell B. G., Staden R., Fiddes J. C. Nature, 1978, v. 276, p. 236-247.
185. van Mansfeld A. D. M., Langeveld S. A., Baas P. D., Lansz H. S., van der Marrel G. A., Veeneman G. H., van Boom J. H. Nature, 1980, v. 288, p. 561-566.
186. Marians K. J., Ikeda J.-E., Schlagman S., Hurwitz J. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1977, v. 74, p. 1965-1968.
187. Heidekamp F., Baas P. D., van Boom J. H., Veeneman G. H., Zipursky S. L., Jansz H. S. Nucl. Acids Res., 1981, v. 9, p. 3335-3354.
188. Eisenberg S., Kornberg A. J. Biol. Chem., 1979, v. 254, p. 5328-5332.
189. Dubeau L., Denhardt D. T. Biochim. et biophys. acta, 1981, v. 563, p. 52-60.
190. Eisenberg S. J. Virol., 1980, v. 35, p. 409-413.
191. Eisenberg S., Finer M. Nucl. Acids Res., 1980, v. 8, p. 5305-5315.
192. Sumida-Yasumoto C., Ikeda J. E., Benz E., Marians K. L., Vicuna R., Sugrue S., Zipursky S. L., Hurwitz J. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 1978, v. 43, p. 311-329.
193. Langeveld S. A., van Arkel G. A., Weisbeck J. J. FEBS Lett., 1980, v. 114, p. 269-272.
194. van der Ende A., Langeveld S. A., Teertstra R., van Arkel G. A., Weisbeck P. J. Nucl. Acids Res., 1981, v. 9, p. 2037-2053.
195. Tse I. C., Kirkegaard K., Wang J. C. J. Biol. Chem., 1980, v. 255, p. 5560-5565.
196. Weisbeck P., van Mansfeld F., Kuhlemeier V. C., van Arkel G., Langeveld S. Eur. J. Biochem., 1981, v. 114, p. 501-507.
197. Revie D., Tseng B. J., Grafstrom R. H., Goulian M. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1979, v. 76, p. 5539-5543.
198. Kasamatsu H., Wu M. Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1976, v. 68, p. 927-936.
199. Kasamatsu H., Wu M. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1976, v. 73, p. 1945-1949.
200. Gerlich W. H., Robinson W. S. Cell, 1980, v. 21, p. 801-809.
201. Юодка Б. А. Бюорган. химия, 1980, т. 6, с. 1445-1465.

Поступила в редакцию
26.V.1982

VIRAL NUCLEIC ACID-PROTEIN COVALENT COMPLEXES

VARTAPETIAN A. B.

*A. N. Belozersky Laboratory of Molecular Biology and Bioorganic
Chemistry, M. V. Lomonosov State University, Moscow*

The review covers natural covalent complexes of viral proteins with genomes of DNA and RNA viruses. Special attention is drawn to the analysis of structure of these compounds. The role of proteins covalently linked to viral genomes, in particular their participation in the initiation of viral nucleic acid synthesis, is discussed.