

ÚJABB ADATOK A TRANSZKRIPCIÓ SZABÁLYOZÁSÁHOZ

DAMJANOVICH SÁNDOR,¹ SCHLAMMADINGER JÓZSEF² és SZABÓ GÁBOR²

DOTÉ Biofizikai¹ és Biológiai² Intézete, Debrecen

A genetikai kód átírásának mechanizmusa, különös tekintettel az átírás specifikására, széles érdeklődésre tart számot. Ennek egyik oka nyilván a probléma általános biológiai érdekességében és fontosságában rejlik. Másrészt az onkogén vírusok tanulmányozása és a rák víruseredetének — legalábbis bizonyos esetekben meggyőző — bizonyítékai irányítják a figyelmet arra a rendszerre, amelynek időleges vagy állandó igénybevétele nélkül, nincs sejtdifferenciálódás és a sejtbe behatolt vírus sem képes hatásait kifejteni (STEWART és LETHAM 1973, CHAMBERLIN 1974).

A kódátírás — transzkripció — mechanizmusának két fő, makromolekuláris tényezője a DNS és az átírást katalizáló enzim, a DNS függő RNS polimeráz (EC 2.7.7.6). A nukleotid populáció, amelyből az újonnan szintetizált RNS felépül, a mikrokörnyezet ion és egyéb a szabályozásban igen fontos szerepet játszó effektor koncentrációja a fehérje-DNS kölcsönhatáshoz képest könnyebben tanulmányozható és talán kevésbé is bonyolult.

Az alábbiakban megkíséreljük a rövid és a dolog természetéből fakadóan távolról sem teljes összefoglalását adni azoknak az újabb kísérleti és elméleti munkáknak, amelyek a DNS és fehérje kölcsönhatással foglalkoznak bakteriális rendszerekben. A helyzetünket megkönnyíti, hogy magyar nyelven 1971-ben már megjelent egy a kérdést sugárbiológiai aspektusból összefoglaló közlemény (DAMJANOVICH és SOMOGYI 1971).

BAUTZ 1973-ban megjelent kitűnő angol nyelvű összefoglalója elsősorban az iniciáció folyamatát tárgyalja. Számos korábbi, ill. jelenleg megjelenés alatt álló munka foglalkozik több-kevesebb részletességgel a transzkripció folyamatával, de a szerteágazó kérdés valamennyi oldalát egyszerre megvilágítani szinte lehetetlen (BURGESS 1971, CHAMBERLIN 1974, STEWART és LETHAM 1973). Ezért jelen összefoglalónkban főleg az RNS polimeráz és a DNS templát kapcsolódásainak kérdésével kívánunk foglalkozni.

A transzkripció legjobban vizsgált modellrendszere az *E. coli*-ból preparált és számos templáttal egyaránt jól működő DNS függő RNS polimeráz, bár az *E. coli*n kívül más prokariótából és eukariótából is állítottak elő polimeráz enzimet. Így *Pseudomonas putida*ból, *B. Subtilis*ből, *Anacystis nidu-*

lansból, *Neurospora crassából*, patkánymáj mitokondriumból és nukleoplazmából, borjú thymusból stb.

A transzkripció mechanizmusát valamennyi eddig vizsgált rendszerben pontosan ugyanazokra a lépésekre lehetett bontani, mint amelyeket az *E. coli* DNS függő RNS polimerázról megállapítottak. Ez bizonyos mértékig igazolja azt, hogy kényelmi (az *E. coli* enzimet aránylag könnyű preparálni) szempontok mellett miért az *E. coli* transzkripcióját vizsgálják a legtöbben.

A transzkripció, amelynek során a DNS függő RNS polimeráz RNS-t szintetizál, számos egymást követő és egymástól elég jól elkülöníthető lépésből áll mind in vivo, mind in vitro. Ezek közül a legfontosabbak a DNS és az enzim kötődése, az RNS lánc iniciálása, az RNS szintézise (elongáció), a szintézis leállítása és végül az enzim leválása a DNS templárról. A transzkripció rész-folyamatai közül az enzim és a DNS kötődése és az RNS lánc iniciálása jelenleg igen intenzív vizsgálat tárgya.

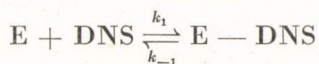
A DNS-fehérje kölcsönhatás mechanizmusa

A tágabb értelemben vett iniciáció azzal kezdődik, hogy az enzim kölcsönhatásba lép a DNS-el. Mivel a kettős helixnek csak az egyik szála íródik át kézenfekvő feltételezni, hogy az enzim kapcsolódása a kettős helixet felnyitja és az újonnan szintetizált RNS hibridet képez azzal a DNS szállal, amely az információt szolgáltatja a szintéziséhez (VON HIPPEL és MCGHEE 1972).

Rövid élettartamú DNS-RNS hibrideket, mint intermedier termékeket kimutattak a transzkripció során. Így HAYASHI és mtsai (1965, 1966, 1968) a φ X 174 átírásakor, SHULMAN és BONNER (1962) továbbá MEAD (1964) *Neurospora*-ban és *Drosophilában* in vivo transzkripció során kimutattak intermedier DNS-RNS hibrideket. Közel tíz éve tartja magát az a felfogás, hogy a templát DNS egy időleges tercier komplexet formál az RNS szintézis során az enzimmel és az újonnan szintetizált RNS-sel és ezáltal a kettős helix felnyitását okozza (CHAMBERLIN, BALDWIN és BERG 1963). A DNS felnyílása bekövetkezhet már akkor, amikor a polimeráz hozzákötődik, vagy később amikor már az RNS lánc hibridet képez az információt adó DNS szállal. Az hogy a polimeráz más fehérjékhez ill. anyagokhoz és behatásokhoz hasonlóan képes a DNS kettős helixét lokálisan felnyitni, tehát „melting proteinként” működni, hosszú ideig nem nyert direkt bizonyítást. Ellenkezőleg, RILEY (1970) kimutatta, hogy a hidrogén hidakkal összetartott két DNS szál képes olyan mértékben kifordulni, hogy a kötések felszakadása nélkül is interkalálódhat az új RNS lánc. Erősítette ezt a felfogást, hogy számos olyan anyagot fedeztek fel amelyek a transzkripciót ehhez hasonló mechanizmus szerint gátolják (STEWART és LETHAM 1973). Az első direkt bizonyítékok a lambda fág és a T₇ fág kettős helixének felnyílását igazolják. SAUCIER és WANG (1972) membránfilter technikával megállapították az átlagos RNS polimeráz DNS arányt, majd érzékeny ultracentri-

fugálási eljárás segítségével kimutatták, hogy ATP és GTP jelenlétében egyetlen RNS polimeráz molekula a DNS helix 120 fokos letekeredését okozza. Az RNS lánc iniciációját gátló rifampicin nem befolyásolja a polimeráznak a DNS-re kifejtett „melting protein” hatását. Az enzim kötődését kb. négy bázispárt összetartó hidrogén kötések felszakadása követi. Az így felnyílt régió közel 15 Å hosszúságú. A folyamat nagymértékben hőmérsékletfüggő, 0 °C-on nem következik be. BICK, LEE és THOMAS (1972) a T₇ fág DNS kettős helixének felnyílását vizsgálták RNS polimeráz jelenlétében. Az RNS polimeráz-DNS komplexről készített elektronmikroszkópos felvételeiken jól megfigyelhető a polimeráz kötőhelyeken felnyílt kettős helix. Az elektronmikroszkópos vizsgálatok kétségtelen szépséghibája, hogy a preparátumok technikai előkészítése során alkalmazott enyhe denaturáló behatás, ha önmagában nem is képes a helixet felnyitni, az enzim sztatikus tere segítségével felnyithatja azt még akkor is, ha arra önmagában az enzim nem is volt képes. A spontán helix felnyílási elméletet amely szerint a helix egyes szakaszai a környezet energiafluktuációjának hatására spontán felnyílhatnak ill. összezáródhatnak, ami lehetővé tenné az enzim egyszerű úton történő kapcsolódását eddig az elektronmikroszkópos képek nem támasztották alá (VON HIPPEL és MCGHEE 1972). Meggyőzőbbek azok a felvételek amelyek a DNS—RNS hibridet is mutatják. Az elektronmikroszkópos felvételekből becsülhető felnyílt szakasz jóval nagyobb, mint amelyet a lambda fág esetében SAUCIER és WANG számításai alapján feltételezhetünk.

Érdekes megemlíteni NIYOGI (1972) energetikai megfontolásait, aki a DNS—DNS kölcsönhatás erősebb voltát hangsúlyozza a DNS—RNS hibriddel szemben és ezzel próbálja magyarázni az RNS későbbi leválását a DNS szálról. A fentiek szerint tehát az enzim és a DNS — esetleg még az első szubsztlát — elektrosztatikus kölcsönhatása okozná a DNS kettős helix szétválását és tenné lehetővé a kodogén DNS szál és az újonnan szintetizált RNS hibridizációját. A nagyobb DNS—DNS affinitás pedig legalábbis segítené az RNS lánc templátról való leválását. HINKLE és CHAMBERLIN (1972) szerint az RNS polimeráz és a DNS kölcsönhatásának kinetikai szempontból két különböző típusa van. Az iniciáció történhet specifikus és nem specifikus iniciációs helyeken a DNS mentén. Modelljük szerint:

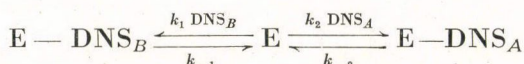


és

$$v = k_1 \cdot [E] \cdot \text{DNS}$$

egyenletekkel (ahol v a kötődés sebessége, E az enzim, a k_1 és k_{-1} a megfelelő kinetikai konstansok) leírt kötődés nem fejezi ki azt, hogy a kötődés specifikus promotor helyen történt-e vagy sem.

A modell az eredetileg JONES és BERG (1966) által kidolgozott membrán-filter technikával végzett kísérleteken alapul. Már korábbi megfigyelésekből is ismeretes volt, hogy az enzim—DNS komplex erőssége lényeges különbséget mutat attól függően, hogy az iniciáció valamely promotor helyen történt-e vagy sem. HINKLE és CHAMBERLIN két komplexet különböztettek meg:



Feltételezték, hogy a komplexek disszociációs állandója igen kicsi. A $k_1 \cdot \text{DNS}_B \gg k_2 \cdot \text{DNS}_A$ mivel a T_7 fágón 8 specifikus kötőhelyet számoltak meg, szemben a DNS denaturációja után nyerhető kb. 1300 kötőhellyel. Így ez az egyenlőtlenség még akkor is fennáll, ha k_1 és k_2 között relatíve kicsi a különbség. A specifikus promotor helyhez az enzim az alacsony disszociációs állandó miatt gyakorlatilag irreverzibilisen kötődik. Így a megfelelő differenciálegyenletekből kiszámítható, hogy az enzim a promotor helyekhez elsőrendű kinetika szerint fog kötődni, és a megfigyelhető kinetikai konstans:

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_2 k_{-1} \text{DNS}_A}{k_1 \cdot \text{DNS}_B}$$

A $k_{\text{obs}} = 3 \cdot 10^{-2} \text{ sec}^{-1}$ értéket kapták minden olyan DNS koncentrációnál, ahol a $k_1 \text{DNS}/k_{-1}$ sokkal nagyobb mint 1 feltétel fennállt.

Ez az 1972-ből származó — meglehetősen egyszerű — kinetikai modell az első, amely kvantitatíve írja le a DNS és a polimeráz kapcsolódását. ISHIHAMA és KAMEYAMA (1967) korábbi kinetikai vizsgálatai még nem támaszkodhattak elegendő ismeretanyagra.

Jelenleg a DOTE Biofizikai Intézetében egy olyan számítógépen vizsgálható modell kidolgozása van folyamatban, amely az iniciációt, egy néhány lépésből álló elongációt, a specifikus iniciációt lehetővé tevő szigma faktor leválását a core enzimről, és reciklizációját egy szabad minimál enzim felhasználásával egyaránt tartalmazza (SZABÓ és mtsai 1974). A kapcsolódó folyamatok számítógépes modellezésének gyakorlati hasznát abban látjuk, hogy egy viszonylag pontos modell birtokában lényegesen kevesebb kísérlet szolgáltathatja ugyanazt az adatmennyiséget, amelyhez egyébként az iniciáció, elongáció és a σ faktor reciklizációjának külön-külön mérése szükséges.

A DNS—enzim kölcsönhatás fluorimetriás vizsgálata

Mint az eddigiekből láthattuk, az enzim és a DNS kapcsolódásának vizsgálatára kidolgozott eljárások aránylag szűk körben mozognak, főleg biokémiai módszereket használnak fel, és csak kevésszer veszik igénybe a modern fizikai módszerek nyújtotta lehetőségeket. Mi a DNS és a DNS függő RNS polimeráz kölcsönhatásának vizsgálatára egy nem régen felfedezett fluoreszcens

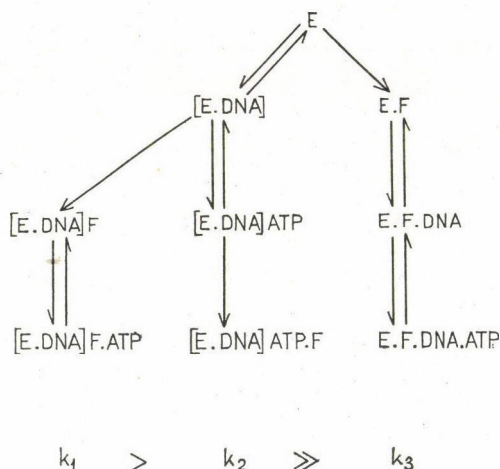
festék (WEIGELE és mtsai 1972), a fluorescamin és a DNS vizsgálatára széles körben alkalmazott etidium bromid kombinációját vezettük be. A fluorescamin, amelyet UDENFRIEND és mtsai (1973) újabban aminosav analízisre és kvantitatív fehérje meghatározásra használnak, önmagában nem fluoreszkál. A szerves oldószerekben jól oldódó anyagot vizes közegbe juttatva, az néhány száz millisecundumon belül kovalensen kötődik a jelenlevő primer aminokhoz, amelyekkel erős fluoreszcenciát mutató komplexet alkot. A feleslegben levő reagens a vizes közeg hatására néhány másodperces felezési idővel nem fluoreszkáló termékekre hidrolizál. Ezek a tulajdonságok a fluorescamint rendkívül alkalmassá teszik a DNS és *E. coli* RNS polimeráz kölcsönhatás vizsgálatára. A fluorescamin a fehérjék N-terminális amino csoportjain kívül a lysin residumok ϵ -amino csoportjaival is reagál. A polimeráz core enzim, amelynek alegység összetétele $\alpha_2\beta\beta'$, kb. 208 lysin-residuumot tartalmaz (BURGESS 1969). Ez a primer aminbőség látszólag alkalmatlanná teszi a fluorescamint arra, hogy jól meghatározott alegységekre lokalizált effektusok vizsgálatára használják. 1973-ban azonban kimutatták, hogy a piridoxal 5'-foszfát az enzim aktív centrumához kötődő specifikus gátlószere az RNS szintézisnek. A piridoxal 5'-foszfát egyetlen lysin residuum ϵ -amino csoportjával képez Schiff bázist és ezáltal gátolja az enzimet (VENEGAS és mtsai 1973). Saját kísérleteinkben a fluoreszcens vizsgálatokat (JOVIN és mtsai 1974) összekapcsoltuk az enzimkinetikai vizsgálatokkal (DAMJANOVICH és mtsai 1974). Megállapítottuk, hogy az enzim a fluorescaminnal fluoreszcens komplexet képez. A fluoreszcens komplex kialakulását templát DNS jelenléte erősen befolyásolta. Az enzim protomer ($E\sigma$) és dimer ($E\sigma - E\sigma$) állapotban, amelyet az ionerősség változtatásával hoztunk létre, jelentősen eltérő fluoreszcens intenzitást mutatott a protomer állapot javára. Ez lehetőséget ad a dimerben maszkírozott lysin ϵ -amino csoportok számának meghatározására.

A 385 nm maximumon gerjeszthető és 485 nm maximumon emittáló fluorescamin igen alkalmasnak bizonyult arra, hogy megkíséréljük az enzim DNS komplex fluorescamin és etidium bromid kettős jelzését. Az etidium bromid a fluorescamin gerjesztési maximumán nem, vagy alig gerjeszthető, az emissziós maximuma pedig 600 nm, ha a DNS kettős helixébe interkalálódott. Ez a kötődés az etidium bromid kvantumhatásfokában egy kb. 20-szoros növekedést idéz elő, a maximum pedig 620 nm-ről tolódik 600 nm-re (LEPECK és PAOLETTI 1967). Ezek a paraméterek ideálisak a fluorescamin felől, a fehérjén és DNS-en keresztül az etidium bromid felé terjedő energia transzfer folyamatok vizsgálatára. DNS-ként magasan polimerizált poli d(AT)-t használva megfelelő fehérje — DNS arány és fluoreszcens jelzőanyag mennyiség alkalmazásakor valóban sikerült a feltételezett energia transzfer folyamatot kimutatni. Ez magában rejti annak a lehetőségét, hogy az ismert Förster-összefüggés alapján más, specifikus promotor helyet tartalmazó DNS-t használva megállapítsuk a felnyílt DNS szakasz körülbelüli hosszát (ERNST 1974).

Érdekes volt az a jelenség, hogy a fluorescamin—fehérje komplex igen magas polarizáltságot mutatott, amelyet a fehérjének a DNS-hez való kötődése egyáltalában nem fokozott. Nanoszekundum fluoreszcens spektrometriával megállapítottuk a fluorescamin fluoreszcens élettartamát, amely rendkívül rövidnek, 3,5—4 nanoszekundumnak bizonyult. Ez a rövid élettartam magyarázza a fenti jelenséget, ugyanis a rotációs Brown-mozgás jóval lassúbb annál, semhogy ilyen rövid reemissziós élettartam mellett depolarizációt okozzon.

Kinetikai vizsgálatok

A fluoreszcens vizsgálatokkal párhuzamosan elvégzett kinetikai vizsgálatok kimutatták, hogy a fluorescamin igen hatásos inhibitora az enzimnek. A hatékonyság és a fluorescamin koncentráció között exponenciális összefüggést találtunk. Ez a piridoxálfoszfáttal végzett kísérletek ismeretében érthető, hiszen a gátlás egyetlen, az aktív centrumban levő primer amin mellett természetesen álszerűleg álszerű kinetikát követ.



Az ábra mutatja az enzim-fluorescamin reakció befolyásolhatóságát az egyes anyagok összemérési sorrendjének a változtatásával. Az egyes, ill. kettős nyilak az irreverzibilis, ill. reverzibilis lépéseket is feltüntetik.

A k_i konstansok az egyes reakciókeverékekhez tartozó RNS szintézis sebességét jelzik, ha a rendszereket kiegészítjük a megfelelő nukleozidtrifoszfátokkal.

Az RNS szintézis gátlása igen sok szinten következhet be. A fluorescamin gátló hatásának pontosabb megismerése érdekében az RNS szintézis gátlását ^{14}C —ATP és gamma helyzetben ^{32}P -vel jelzett ATP segítségével egyaránt vizsgáltuk. A ^{32}P az új RNS láncok darabszámának az indikátora, míg a ^{14}C aktivitás az összes szintetizálódott RNS-t méri. A specifikus iniciáció gátló

rifampicinnel párhuzamosan végzett kísérleteinkhez teljesen hasonló lefutást mutattak a fluorescaminnal nyert eredményeink is.

A γ - ^{32}P —ATP-nek a beépítése, azaz új RNS lánc iniciálása azonnal megszűnt a fluorescamin adása után, míg a már megkezdett láncok befejezése a fluorescamin mennyiségével fordított arányban megtörtént.

A fluorescamin nagy előnye tehát, hogy biofizikai és biokémiai módszerekkel egyformán könnyű tanulmányozni segítségével a DNS-fehérje kölcsönhatást. Támadáspontja eléggé körülírt. Irreverzibilitása és gyors kötődése bizonyos fajta kinetikai vizsgálatokra igen alkalmassá teszi. T_7 ill. T_4 fág DNS-sel eddig végzett kísérleteink amellet szólnak, hogy a poli d(AT)-vel nyert eredményeink más, bonyolultabb természetes DNS-ekre is érvényesek.

Különböző polimeráz fajták

A DNS függő RNS polimeráz enzim funkciója új RNS szintézise. Baktériumokban ezt a funkciót valamennyi génre vonatkozóan egy RNS polimeráz fajta végzi (BAUTZ 1973). Egyes baktériumok különböző vegetatív formái két minimálisan különböző DNS függő RNS polimeráz enzimet tartalmaznak (LOSICK és mtsai 1970, SONENSHEIN és LOSICK 1970). Ez a különbség azonban nem jelent távolról sem akkora változást a molekulasúlyban és alegységszerkezetben, mint amilyen a lényegében ugyanazt a funkciót végző DNS polimeráz és RNS polimeráz között van. Az RNS szintézis tanulmányozását sok tekintetben megkönnyítette olyan polimeráz enzimek felfedezése, amelyeknek a szerkezete — a DNS polimerázéhoz hasonlóan — sokkal egyszerűbb, mint az *E. coli* DNS függő RNS polimeráz enziméé (CHAMBERLIN és mtsai 1970, DUNN és mtsai 1971). A T_3 fággal fertőzött *E. coli*ből előállított RNS polimeráz molekulasúlya csak 110 000 dalton, egy alegységből áll, valószínűleg monomer formában is aktív és nem igényel további fehérje faktort a transzkripcióhoz. Igen nagy előnye, hogy T_3 DNS-en mindig pppGpGpApPn sorrenddel kezd. A T_3 polimeráz érzékeny rifampicin derivátumokra, heparinra, aktinomycin D-re és distamycinre. Jelentős különbség azonban a T_3 és *E. coli* polimeráz között, hogy a T_3 polimeráz DNS-hez kötött állapotban sem rezisztens a heparinra. Distamycinre érzékenyebb, aktinomycin D-re rezisztensebb mint az *E. coli* enzim (KÜPPER és mtsai 1973).

Legújabban FUKUDA és mtsai (1974), valamint IWAKURA és mtsai (1974) új holoenzimet fedeztek fel. Az új holoenzim core enzime azonos az *E. coli* enzim $\alpha_2\beta\beta'$ core enzimével, azonban a 90 000 dalton molekulasúlyú σ faktor helyett egy 56 000 dalton molekulasúlyú σ' faktort tartalmaz. Az új faktor megtalálható az *E. coli*ban, csak a mennyisége lényegesen kisebb, mint a σ faktoré. A szerzők az $\alpha_2\beta\beta'\sigma'$ alegységekből álló enzimet holoenzim II-nek nevezik. Ez tulajdonságaiban jelentősen eltér az $\alpha_2\beta\beta'\sigma$ összetételű holoenzim I-től. Képes templát nélküli poliadenilát-poliuridilát szintézisre.

1970 és 1973 között számos szerző tanulmányozta a thiol csoportok funkcióját a DNS függő RNS polimeráz működésében (SÜMEGI és mtsai 1971, BEYCHOK és HARDING 1972, LILL és HARTMANN 1973, NICHOLSON és KING 1973).

A kiterjedt vizsgálatok ellenére, amelyek megállapították, hogy a thiolok ISHIMA és HURWITZ (1969) korábbi vizsgálatainak megfelelően eszenciálisak a polimeráz működéséhez, egyetlen lényeges előrehaladást csupán az jelentette, hogy az egyes alegységekhez tartozó SH csoportok mennyiségét is megállapították. Továbbra is nyitott kérdés azonban, hogy a thiolok aktívan részt vesznek-e a katalitikus funkcióban, vagy a templát megkötésében. A legvalószínűbb, hogy a bonyolult alegységstruktúra fenntartása a legfontosabb funkciójuk.

A bemutatott, és távolról sem teljes adatok lényeges haladásról tanúskodnak. Ennek ellenére a kódátírás mechanizmusának leglényegesebb mozzanatát mindeddig nem sikerült tisztázni. Nincs információnk arról, hogy a templát hogyan vesz részt a katalízisben. Nem ismerjük az átírást végző enzim $5' \rightarrow 3'$ haladási irányát megszabó tényezőket és az enzim—templát kölcsönhatásának az energetikája sem tisztázott.

A biokémikusok felfedezése, hogy az RNS szintézis az $5'$ végtől a $3'$ vég felé halad, csak megállapítja a jelenséget, de annak oki, energetikai tényezőiről semmit sem mond. A transzkripció szelektivitásáért felelős tényezők, a promotor és terminátor helyek struktúrája ezek felismerésének folyamata, szerepük a transzkripció regulálásában mind olyan területek, amelyek kutatása általános és orvosi biológiai szempontból egyaránt rendkívül fontos. A felvetett kérdések fontosságával arányos kutatási kedv nyilvánul meg világszerte, és ez valószínűvé teszi, hogy a felvetett kérdések rövidesen választ nyerhetnek, és a kutatások főiránya a prokarióta transzkripció tisztázása után az eukariótákra fog irányulni.

IRODALOM

- BAUTZ, E. K. F.: FEBS. Letters **36**, 123 (1973).
 BEYCHOK, S., HARDING, J. D.: Biochim. Biophys. Res. Comm. **51**, 711 (1973).
 BICK, M. D., LEE, C. S., THOMAS, JR. CH. A.: J. Mol. Biol. **71**, 1 (1972).
 BURGESS, R. R.: J. Biol. Chem. **244**, 6168 (1969).
 BURGESS, R. R.: Ann. Review of Biochemistry **40**, 711 (1971).
 CHAMBERLIN, M., BALDWIN, L., BERG, P.: J. Mol. Biol. **7**, 334 (1963).
 CHAMBERLIN, M.: Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **35**, 851 (1970).
 CHAMBERLIN, M.: in Boyer (szerk). The Enzymes. Vol. X. Acad. Press (1974).
 DAMJANOVICH, S., SOMOGYI, B.: MTA Biol. Oszt. Közl. Vol. **14**, 263 (1971).
 DAMJANOVICH, S., JOVIN, T., BÄHR, W.: Megjelenés alatt.
 ERNST, J. (szerk.): Biofizika. Akadémiai Kiadó (1974).
 DUNN, J. J., BAUTZ, F. A., BAUTZ, E. K. F.: Nature New Biology **230**, 94 (1971).
 FUKUDA, R., IWAKURA, Y., ISHIHAMA, A.: J. Mol. Biol. **82**, 353 (1974).
 HAYASHI, M.: Proc. Natl. Acad. Sci. Wash. **54**, 1736 (1965).
 HAYASHI, M., HAYASHI, M.: Proc. Natl. Acad. Sci. Wash. **55**, 635 (1966).
 HAYASHI, M., HAYASHI, M.: Proc. Natl. Acad. Sci. Wash. **61**, 1107 (1968).
 HINKLE, D. L., CHAMBERLIN, M.: J. Mol. Biol. **70**, 187 (1972).

- VON HIPPEL, P. H., MCGHEE, J. D.: *Ann. Review of Biochemistry* (1972).
- ISHIHAMA, A., HURWITZ, J.: *J. Biol. Chem.* **244**, 6680 (1969).
- ISHIHAMA, A., KAMEYAMA, T.: *Biochim. Biophys. Acta.* **133**, 480 (1967).
- IWAKURA, Y., FUKUDA, R., ISHIHAMA, A.: *J. Mol. Biol.* **83**, 369 (1974).
- JONES, O. W., BERG, P.: *J. Mol. Biol.* **22**, 199 (1966).
- JOVIN, T., DAMJANOVICH, S., BÄHR, W.: Megjelenés alatt.
- KÜPPER, H. A., MCALLISTER, W. T., BAUTZ, E. K. F.: *Eur. J. Biochem.* **33**, 581 (1973).
- LEPECO, J. B., PAOLETTI, C.: *J. Mol. Biol.* **27**, 87 (1967).
- LILL, U., HARTMANN, G. H.: *Eur. J. Biochem.* **33**, 336 (1973).
- LOSICK, R., SHORENSTEIN, R., SONENSHEIN, A.: *Nature* **227**, 910 (1970).
- MEAD, C.: *J. Biol. Chem.* **239**, 550 (1964).
- NICHOLSON, B. H., KING, A. M. Q.: *Eur. J. Biochem.* **37**, 575 (1973).
- NIYOGI, S.: *J. Mol. Biol.* **64**, 609 (1972).
- RILEY, P. A.: *Nature* **223**, 522 (1970).
- SAUCIER, J., WANG, J.: *Nature New Biology* **239**, 167 (1972).
- SHULMAN, H., BONNER, D.: *Proc. Natl. Acad. Sci. Wash.* **48**, 53 (1962).
- SONENSHEIN, A., LOSICK, R.: *Nature* **227**, 906 (1970).
- STEWART, P. R., LETHAM, D. S.: *The Ribonucleic Acids*. Springer (1973).
- SÜMEGI, J., SANNER, T., PHIL, A.: *Biochim. Biophys. Acta* **262**, 145 (1972).
- SZABÓ, G., JR., GÁSPÁR, R., DAMJANOVICH, S.: Nem közölt számítások.
- UDENFRIEND, S., STEIN, S., BÖHLEN, P., DAIRMAN, W., LEIMGRUBER, W., WEIGELE, M.: *Science* **178**, 871 (1972).
- VENEGAS, A., MARTIAL, J., VALENZUELA, P.: *Biochim. Biophys. Res. Commun.* **55**, 1053 (1973).
- WEIGELE, M., DEBERNARDO, S. L., TENGI, J. P., LEIMGRUBER, W.: *J. Am. Chem. Soc.* **94**, 5927 (1972).