



УДК 577.113.5+575(852'113+856)

НУКЛЕОТИДНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ГЕНА 16S рРНК
ИЗ АРХЕОБАКТЕРИИ *HALOBACTERIUM HALOBIVM*

Каграманова В. К., Манькин А. С., Тетерин Н. Л.,
Рубцов П. М.*, Копылов А. М., Баратова Л. А.,
Богданов А. А.

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

* Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва

Определена полная нуклеотидная последовательность гена 16S рРНК из археобактерии *Halobacterium halobium*. Степень гомологии этой рРНК с соответствующими РНК из рибосом эубактерий (*Escherichia coli*) и эукариот (*Dictyostellium discoideum*) составляет соответственно 63 и 56%. Значительно большая степень гомологии (88%) обнаружена между 16S рРНК из *H. halobium* и нуклеотидными последовательностями двух других археобактериальных 16S рРНК (из *Halobacterium volcanii* и *Halococcus morrhua*), известными к настоящему времени. Сравнительный анализ этих нуклеотидных последовательностей позволил уточнить модель вторичной структуры археобактериальной 16S рРНК.

Согласно современным взглядам, все существующие организмы образуют три первичных эволюционных царства — эубактерий, археобактерий и эукариот [1]. Представители недавно открытого царства археобактерий обладают, с одной стороны, некоторыми чертами, свойственными эубактериям и эукариотам, а с другой — рядом отличительных «археобактериальных» черт.

Одним из характерных филогенетических признаков организма является организация генов рибосомных РНК. У эубактерий и эукариот гены рРНК физически сцеплены и транскрибируются совместно с единого промотора. В эубактериальном рибосомном опероне гены рРНК располагаются в порядке 5'-16SpРНК-23SpРНК-5SpРНК-3' [2]. У эукариот рибосомный оперон имеет структуру 5'-18SpРНК-5,8SpРНК-28SpРНК-3' [3]. Ген 5SpРНК у эукариот синтезируется с отдельного промотора. В случае археобактерий ситуация более сложная. Как было недавно показано, среди археобактерий имеются представители (*Thermoproteales*), у которых структурные гены рибосомных РНК расположены в геноме на значительном расстоянии и, вероятно, транскрибируются независимо друг от друга. В то же время существуют археобактерии (галофило-метаногенная группа), у которых, как у эубактерий и эукариот, эти гены физически сцеплены и, по-видимому, организованы в опероны [4, 5].

Из представителей последней группы большой интерес вызывает родописинтезирующая галофильная археобактерия *Halobacterium halobium*. Уникальность ее состоит в том, что она содержит единственный оперон рибосомных РНК, который имеет типичную эубактериальную структуру: 5'-16SpРНК-23SpРНК-5SpРНК-3'. Таким образом, этот организм может оказаться очень удобным объектом для изучения экспрессии рибосомных РНК, а также для введения направленных мутаций в рРНК с целью исследования их влияния на организацию и функционирование рибосомы.

Ранее нами была определена первичная структура 5S рРНК [6], нуклеотидная последовательность транскрибируемого спейсера между генами 16S и 23S рРНК [7], а также структура промоторного участка рибосомного оперона из *H. halobium* [8]. Настоящая работа посвящена изучению

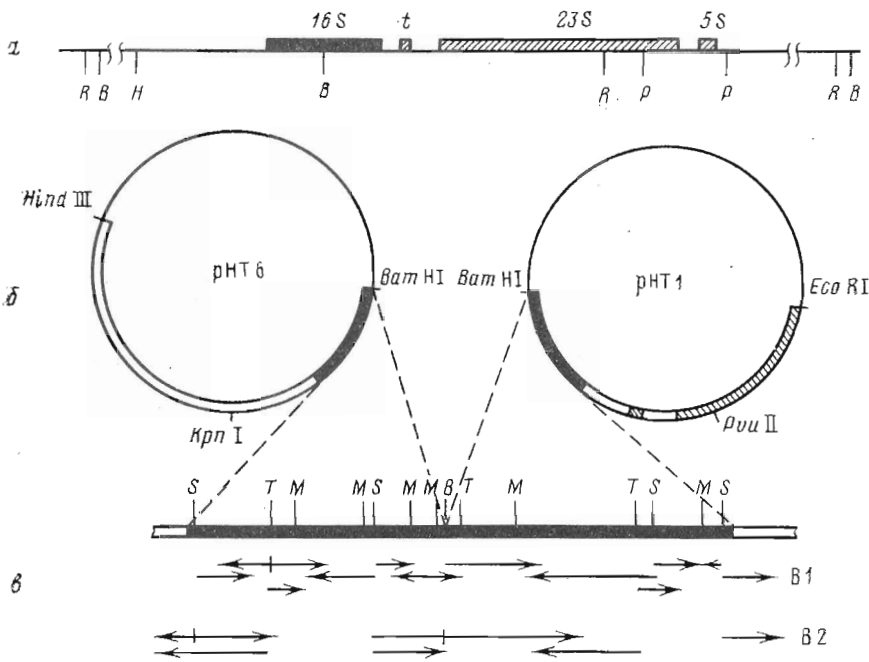


Рис. 1. *a* — рестрикционная карта оперона рибосомных рРНК из *H. halobium*. Структурный ген 16S рРНК зачернен, гены «спейсерной» тРНК, 23S рРНК и 5S рРНК заштрихованы; *б* — физическая карта рекомбинантных плазмид рНТ1 и рНТ6, содержащих 3'- и 5'-концевые половины гена 16S рРНК из *H. halobium*. Одинарной линией обозначена ДНК рВР322, двойной — фрагмент ДНК из *H. halobium*; *в* — схема стратегии определения нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК. Показаны фрагменты, структура которых была определена по методам Максама — Гилберта [10] (В1), Сэнджера и др. [11] (В2). Сайты расщепления рестрикционными эндонуклеазами: *Bam*HI — В, *Sau*3A — S, *Taq*I — Т, *Msp*I — М, *Eco*RI — R, *Hind*III — H, *Pst*I — Р

нуклеотидной последовательности первого структурного гена этого оперона, кодирующего 16S рРНК.

Клонирование гена 16S рРНК из *H. halobium*. Для локализации и выделения гена, кодирующего 16S рРНК, была построена рестрикционная карта рибосомного оперона из *H. halobium* (рис. 1а). С этой целью суммарную ДНК, выделенную из клеток *H. halobium*, штамм RI, подвергали гидролизу рестриктазами *Eco*RI, *Bam*HI, *Hind*III или *Pst*I, а также парами рестриктаз *Bam*HI — *Eco*RI или *Bam*HI — *Hind*III. Образующиеся при этом фрагменты разделяли методом электрофореза в 1% агарозном геле, переносили на нитроцеллюлозные фильтры и проводили гибридизацию с ³²P-мечеными 5S, 16S и 23S рРНК, выделенными из этого же организма. Полученная нами рестрикционная карта рибосомного оперона из *H. halobium* хорошо согласуется с результатами других авторов [4, 5]. Фрагмент длиной 4,5 т.п.о., содержащий 5'-концевую половину (*Hind*III — *Bam*HI), и фрагмент длиной 2,8 т.п.о., содержащий 3'-концевую половину гена 16S рРНК (*Bam*HI — *Eco*RI), клонировали в плазмиде рВР322 (физические карты рекомбинантных плазмид рНТ1 и рНТ6, несущих указанные выше фрагменты, приведены на рис. 1б). Для определения первичной структуры гена 16S рРНК рекомбинантные плазмиды рНТ1 и рНТ6 гидролизовали парами рестриктаз *Bam*HI — *Pvu*II и *Bam*HI — *Kpn*I соответственно. Фрагменты, несущие нуклеотидные последовательности гена 16S рРНК (что было доказано путем гибридизации по методу Саузерна [9]), выделяли для дальнейшего анализа элюцией из агарозного геля.

Нуклеотидная последовательность 16S рРНК из *H. halobium*. Анализ нуклеотидной последовательности проводили двумя путями: методом частичной химической деградации по Максому — Гилберту [10] и «дидезокси»-методом Сэнджера [11]. Стратегия определения нуклеотидной последовательности показана на рис. 1в.

```

1  ATTCCGGTTG  ATCCTGCCGG  AGGCCATTGC  TATCGGAGTC  CGATTTAGCC  ATGCTAGTTG
-----
-----T-----T-----G-----
-----T-----G-----

61  TCGGGGTTTA  GACCCGCAGC  GGAAAGCTCA  GTAACACGTG  GCCAAGCTAC  CCTGTGGACC
CA--A--C-  T--T--TG--  -A-----  -----A-----ACA--GA
-A-----C-  -----T--  AA-T-----C  -----T--A-----C-----

121  GGAATACTCT  CGGGAAACTG  AGGCTAATCC  CCGATAACGC  TTTGCTCTCTG  GAAGGGGCAT
ACG---AC---  -----AG  TTC---CG-G  AG-CA-G---  -T-CCG-C
--G---TC---  -----TC---  -A---CT---  -CA-GT---  -TACAG--

181  AGCCGGAALC  GCTCCGGCGC  CACAGGATGC  GGCTGCGGTC  GATTAGGTAG  ACGGTGGGGT
TC--C-----  ----A-----  TGT-----T  -----C-----
--T-----  -G---C---  -GG---C-T  -A-----C-  -----

241  AACGGCCAC  CGTGCCATA  ATCGGTACGG  GTTGTGAGAG  CAAGAGCCCG  GAGACGGAAT
-----
-----G-----
-----G-----

301  CTGAGACAAG  ATTCCGGGCC  CTACGGGGCG  CAGCAGGCGC  GAAACCTTTA  CACTGTACGA
-----
-----A-----
-----C---C
-----C---C

361  AAGTGCGATA  AGGGGACTCC  GAGTGTGAAG  GCATAGAGCC  TTCACTTTTG  TACACCGTAA
-----C---  A---C---G-  -----T--T-  C--G---C-  -CG-----
C-----  -----C--  -----C-G-  -----C-T-  C-G-----C  GTG-----

421  GGTGGTGCAC  GAATAAGGAC  TGGGAAGAC  CGGTGCCAGC  CGCCGCGGTA  ATACCGGCAG
--C---CG-G  -----AG-  -----  -----  -----
-AA---CTCA  -----AG-  -----  -----  -----

481  TCCGAGTGAT  GGCCGATCTT  ATTGGGCCTA  AAGCGTCCGT  AGCTGGCTGA  ACAAGTCCCT
CT-A-----  -A---A---  -----  -----  ---C---CAC  GA-G---T-A-
CT-----  A---AC-A--  -----  -----  ---C---C-  ---G-----

541  TGGGAAATCT  GTCCGCTTAA  CGGGCAGGCG  TCCAGCGGAA  ACTGTTCAGC  TTGGGACCGG
C-----C  -C-A---C-  -T---G---  -G-T-A---  -CACGTG-  -G-----
C-----C  AC-----C-  ---TG---  A  -G-----  -CAG-G-  ---G-----

601  AAGACCTGAG  GGGTACGTCT  GGGGTAGGAG  TGAATCCTG  TAATCCTGGA  CGGACCGCCG
--G-TC---  -----C  -----  -----C-  -----A---
G---A---  A-----C  -----  -----  -----A---

661  GTGGCGAAAG  CGCTCAGGA  GAACGGATCC  GACAGTGAGG  GACGAAAGCT  AGGGTCTCGA
A-----  -A---GA--  AG-----  -G-----  -----  -----
--A-----  --T--T---  -----C-  -G-----  -----  T-----

721  ACCGGATTAG  ATACCCGGGT  AGTCTAGCT  GTAAACGATG  TCCGCTAGGT  GTGGCGCAGG
-----  -----  -----A---  -----  CT-----  ---A-A-
-----  -----  -----  -----  CT-----  ---TT-

81  CTACGAGCCT  GCGCTGTGCC  GTAGGGAAGC  CGAGAAGCGG  ACCGCCTGGG  AAGTACGTCT
-----  -T-T-----  -----  -----A  G-----C
-----A  -----  -----  -----A  G-----C

841  GCAAGGATGA  AACTTAAAGG  AATTGGCGGG  GGAGCACTAC  AACCGGAGGA  GCCTGCGGTT
-----
-----

901  TAATTGGACT  CAACGCCGGA  CATCTACCA  GCCCCGACAG  TAGTAATGAC  GGTCAGGTTG
-----  -----  -----G  -T---TA  C---G---  -A-----TCC-
-----  -----  -----  -A---  -G-C-G-  A-----

961  ATGACCTTAC  CCGAGGCTAC  TGAGAGGAGG  TGCATGGCCG  CCGTCAGCTC  GTACCGTGAG
-----T  A---C---GT  A-----  -G-----  -G-----  -G-----
---GG-----  TT---X-C-  -----  -----  -----

1021  GCGTCTGTGT  AAGTACGGCA  ACGAGCGAGA  CCCGCACCTC  TAATTGCCAG  CGGTACCCTT
-----  -----  -----  -----T-  -----  -A-C-GXT-
-----  -----  -----  -GTC-  -----  -A-C-G-

1081  TGGGTAGCTG  GGTACATTAG  GTGGACTGCC  GCTGCCAAAG  CGGAGGAAGG  AACGGGCAAC
C-AC-G---  -----  AA-----  -----T-  -----  -----
GT-C-G---  -----  -GA-----  -TC--T--GA  -----

1141  GGTAGGTCAG  TATGCCCCGA  ATGGGCTGGG  CAACACGCGG  GCTACAATGG  TCGAGACAAT
-----  -----  -A-----  -T-----  -----  -----
-----  -----  -T-C---  -G-----  -----  C-----G-

```

1201	GGGAAGCCAC	TCCGAGAGGA	GCCGCTAATC	TCCTAAACTC	GATCGTAGTT	CGGATTGAGG
	---TT---T-T	CT---A--AG	AA-----	-----	-----	-----
	---C---T--	C-----G	-A-----	-----C---	-G-----	-----C---
1261	GCTGAAACTC	CCCCTCATGA	AGCTGGATTC	GGTAGTAATC	GCGTGTACGC	AGCGCGCGGT
	-----	-----	-----	-----	---A-T---AT	---A-T---
	-T-----C-	A---G----	-----	-----	--A-T---A	--A-T---
1321	GAATACGTCC	CTGCTCCTTG	CACACACCGC	CCGTCAAATC	ACCCGAGTGG	GGTTCGGATG
	-----	-----	-----	-----G-	-----A	---C-----
	-----	-----	-----	-----	-----A	---C-----
1381	AGGCCGGCAT	GCGCTGGTCA	AATCTGGGCT	CCGCAAGGGG	GATTAAGTCG	TAACAAGGTA
	-----AC--C	A--G-----G	-----CT-	-----	-C-----	-----
	-----GCAA--	C-----G	-----	T-----	-----	-----
1441	GCCGTAGGGG	AATCTGCGGC	TGGATCACCT	CCT		
	-----	-----	-----	---		
	-----	-----	-----	---		

Рис. 2. Нуклеотидные последовательности генов 16S рРНК из *H. halobium* (некодирующая РНК-подобная цепь, верхняя строка), *H. volcanii* (средняя строка) и *H. morrhua* (нижняя строка). В средней и нижней строках приведены только отличающиеся нуклеотиды; гомологичные нуклеотиды прочеркнуты; делеции и вставки отмечены соответственно знаками «X» и «†»

Полная нуклеотидная последовательность гена 16S рРНК из *H. halobium* приведена на рис. 2. Структура 5'- и 3'-концевых участков этой 16S рРНК была описана ранее [8, 12].

Как следует из полученных нами данных, 16S рРНК из *H. halobium* содержит 1473 нуклеотидных остатка, что на два нуклеотида меньше, чем в 16S рРНК из *H. morrhua* [13], и на один нуклеотид больше, чем в аналогичной рРНК из *H. volcanii* [14]. Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей этих трех археобактериальных 16S рРНК позволил оценить степень их гомологии, составляющей 88% для каждой пары РНК. Столь высокая степень гомологии отражает, по-видимому, тот факт, что все три рРНК принадлежат к одной и той же галофило-метаногенной ветви археобактериального царства [1]. Однако можно было бы ожидать, что различие между *H. halobium* и *H. morrhua* будет значительнее, чем между *H. halobium* и *H. volcanii*, поскольку *H. morrhua* входит в состав другого рода экстремальных галофильных организмов. Степень гомологии между 16S рРНК из *H. halobium* и 16S рРНК из эубактерии *E. coli*, а также между 16S рРНК из *H. halobium* и 18S рРНК из эукариотического организма *D. discoideum* значительно ниже и составляет 63 и 56% соответственно.

Вторичная структура 16S рРНК из *H. halobium*. Моделирование вторичной структуры РНК малой субчастицы эубактериальных и эукариотических рибосом базируется на двух главных принципах: филогенетических исследованиях, основанных на сравнении нуклеотидных последовательностей 16S (18S) рРНК [15–17], и экспериментальных данных, касающихся доступности тех или иных участков РНК для действия ферментов или химических агентов, специфичных к одно- или двухцепочечным элементам вторичной структуры [17]. Построенные модели вторичной структуры эубактериальной 16S рРНК и эукариотической 18S рРНК, несмотря на большое различие в длине молекул и их нуклеотидной последовательности, в целом очень консервативны, т. е. обнаруживают значительное сходство, определяемое, по-видимому, общностью их функций в трансляционном аппарате клетки. Эта функциональная эквивалентность заставляет предполагать, что и в третьем эволюционном царстве — археобактерий — РНК малой субчастицы рибосом будут обладать вторичной структурой, сходной в определенных элементах со структурами, предложенными для эубактерий и эукариот. Действительно, существующие в настоящее время две модели вторичной структуры для археобактериальной 16S рРНК (одна из них предложена для 16S рРНК из *H. morrhua* [13], а другая — для 16S рРНК из *H. volcanii* [14]) имеют много общего с эукариотической и особенно эубактериальной моделями. Сравнение обеих моделей вторичной структуры археобактерий показывает, что они различаются лишь несколь-

кими структурными элементами. В частности, модель вторичной структуры, предложенная Лефферсом и Гарреттом [13], имеет несколько дополнительных двухцепочечных спиралей (в шпильках 58—82, 159—183, 190—199 и 1210—1221), которые в модели для 16S рРНК из *H. volcanii* [14] представлены в виде неспирализованных одноцепочечных участков. В связи с этим знание нуклеотидной последовательности еще одной археобактериальной 16S рРНК оказывается чрезвычайно полезным, поскольку позволяет не только судить о распределении наиболее вариабельных и консервативных участков в первичной структуре археобактериальной 16S рРНК, но и осуществить филогенетический анализ предложенных моделей вторичной структуры.

Детальное рассмотрение нуклеотидных замен в шпильках 58—82, 159—183, 190—199 и 1210—1221 всех трех археобактериальных 16S рРНК показало, что они имеют строго компенсаторный характер, т. е. происходят только такие замены, которые не нарушают уотсон-крикковское спаривание оснований в стебле шпильки. Этот факт свидетельствует в пользу существования перечисленных выше шпилек во вторичной структуре этих молекул. В целом благодаря наличию компенсаторных нуклеотидных замен 27 шпилек в модели вторичной структуры 16S рРНК археобактерий, предложенной Лефферсом и Гарреттом [13], находят филогенетическое подтверждение. В соответствии с этим для 16S рРНК из *H. halobium* может быть предложена модель вторичной структуры, изображенная на рис. 3. Эта модель хорошо согласуется также с данными (рис. 3), полученными нами при расщеплении этой молекулы в неденатурирующих условиях РНКазой T_1 и A , специфичными к одноцепочечным участкам полинуклеотидной цепи. Действительно, большинство сайтов, доступных действию этих ферментов в неденатурированной 16S рРНК, расположено либо в одноцепочечных участках, либо вблизи дефектных последовательностей, нарушающих комплементарность стеблей шпилек. Единственным исключением является доступность действию РНКазы T_1 межнуклеотидной связи после остатка гуаниловой кислоты G-859, расположенного, как следует из рис. 3, в середине совершенной двухцепочечной спирали, образованной четырьмя парами комплементарных оснований. Однако этот факт находится в согласии с данными по расщеплению РНКазой T_1 соответствующих участков в 16S рРНК эубактерий [15] и 18S рРНК эукариот [17]. Возможно, что шпилька 12—15/858—861 не существует в молекуле постоянно, а образуется лишь при определенном функциональном состоянии рибосомы.

Как уже отмечалось, археобактерия *H. halobium* относится к экстремальным галофилам, т. е. живет и размножается при высоких концентрациях солей во внешней среде. При этом внутриклеточная концентрация солей также чрезвычайно высока [18]. Это значит, что все клеточные органеллы галофилов должны быть адаптированы к существованию в условиях высокой ионной силы. И действительно, было показано, что рибосомы родственной галофильной археобактерии *Halobacterium cutirubrum*, а также ее субрибосомные рибонуклеопротеидные комплексы существуют лишь в растворах 3,4 М KCl и диссоциируют на составляющие компоненты при снижении ионной силы [19]. Было высказано предположение, что ответственными за такую «галофильную» устойчивость при высокой концентрации солей могут быть как рибосомные белки [20], так и рРНК [6], поскольку и те и другие молекулы способны изменять свою пространственную структуру в зависимости от величины ионной силы окружающей среды. В связи с этим, зная нуклеотидную последовательность 16S рРНК из *H. halobium* и построив модель ее вторичной структуры, можно было попытаться найти в этой молекуле какие-то специфические, «галофильные», черты, определяющие ее поведение в экстремальной среде обитания. Выше мы указывали на то, что вторичная структура 16S рРНК из *H. halobium*, равно как и из *H. morrhua* и *H. volcanii*, может иметь ряд дополнительных шпилек, подтверждаемых филогенетически анализом и отсутствующих, по-видимому, во вторичной структуре соответствующих рРНК из эубактерий и эукариот. Не исключено, что именно эти элементы вто-

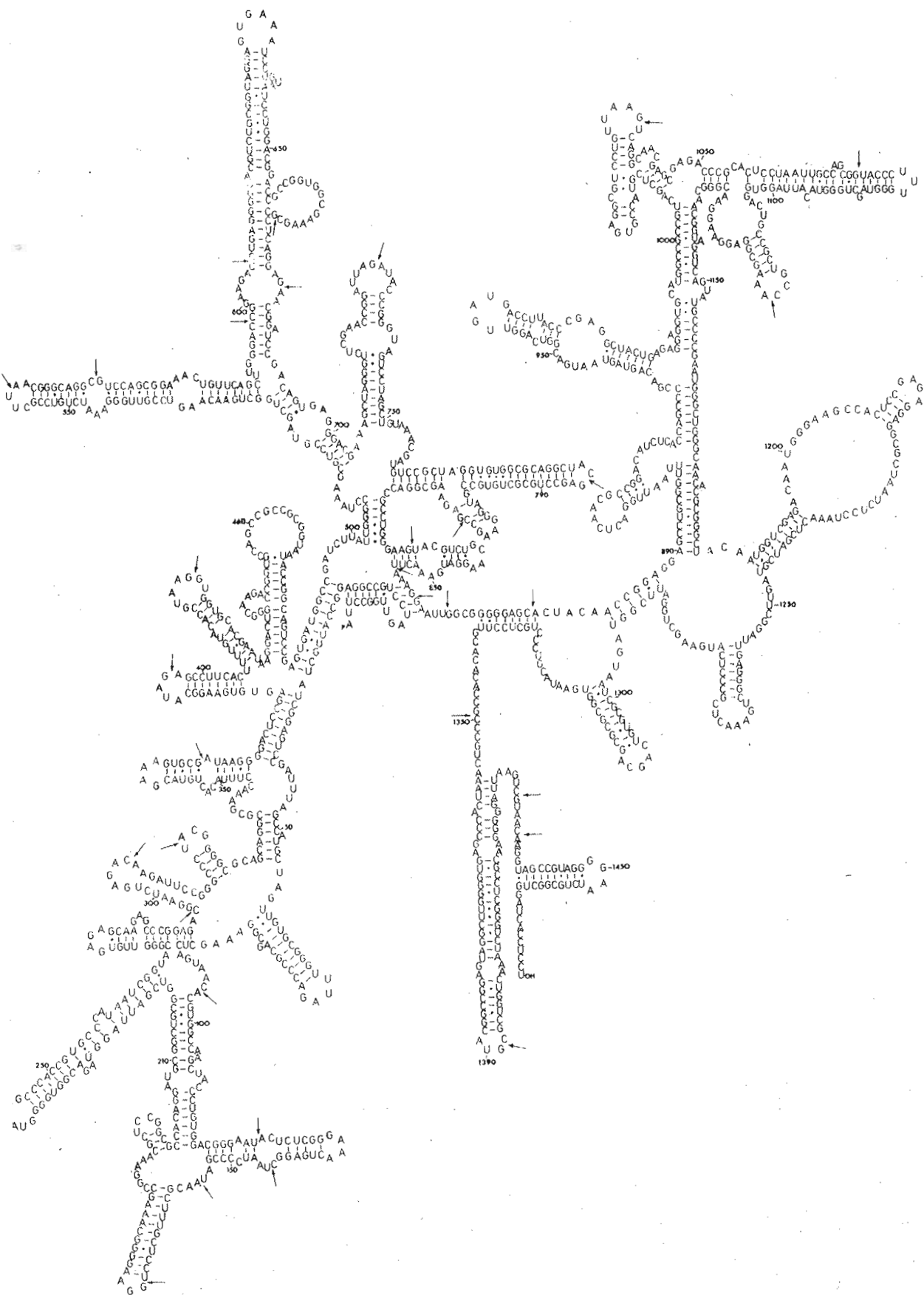


Рис. 3. Модель вторичной структуры 16S рРНК *Escherichia coli*. Стрелками отмечены сайты для действия T₁ и А в недеактивированных условиях

ричной структуры являются отличительной особенностью 16S рРНК из галофильных организмов. С другой стороны, столь же справедливо будет предположить, что указанные элементы отражают не «галофильную», а вообще «археобактериальную» природу этих трех рРНК и представляют собой тот филогенетический маркер, который можно будет использовать для выявления генеалогических взаимоотношений между организмами из разных первичных царств. Однако решить этот вопрос без знания первичных структур 16S рРНК из археобактерий, принадлежащих не к галофильному, а другим порядкам, представляется невозможным.

Экспериментальная часть

В работе использованы рестрикционные эндонуклеазы *Bam*HI, *Eco*RI, *Hind*III, *Pst*I, *Pvu*II, *Sau*3A, *Msp*I, а также Т4-полинуклеотидкиназа и Т4-РНК-лигаза отечественного производства. Рестрикционные эндонуклеазы *Acc*I, *Taq*I, *Kpn*I и большой фрагмент ДНК-полимеразы I (фермент Кленова) были любезно предоставлены А. Метспалу (Тартуский государственный университет). Индивидуальные 16S, 23S и 5S рРНК из *H. halobium*, штамм RI, были выделены по описанной методике [4]. Препарат суммарной ДНК из того же штамма был выделен и любезно предоставлен Е. Шубиной (Московский государственный университет).

Введение радиоактивной метки в рРНК. 50 мкг рРНК кипятили 15 мин в 20 мкл дистиллированной воды. В раствор добавляли трих-НСI, MgCl₂ и дитиотреит до концентрации 50, 10 и 5 мМ соответственно. 100 мкКи [γ -³²P]АТР (3000 Ки/ммоль, Amersham, Англия) и 5 ед. акт. Т4-полинуклеотидкиназы добавляли в реакционную смесь и инкубировали 12 ч при 10° С. Меченые фрагменты рРНК отделяли от избытка [γ -³²P]АТР путем гель-фильтрации на колонке с сефадексом G-50 и осаждали из раствора трехкратным объемом этилового спирта.

Получение рестрикционной карты оперона рибосомных РНК. Суммарную ДНК из *H. halobium* расщепляли рестрикционными эндонуклеазами *Bam*HI, *Eco*RI, *Hind*III, *Pst*I или парами рестрикционных эндонуклеаз *Bam*HI — *Eco*RI и *Bam*HI — *Hind*III. Полученные гидролизаты разделяли с помощью электрофореза в 1% агарозном геле, фрагменты ДНК переносили на нитроцеллюлозные фильтры и гибридизовали с ³²P-мечеными 16S, 23S и 5S рРНК по методике Саузерна [9].

Клонирование гена 16S рРНК из H. halobium. ДНК из *H. halobium* расщепляли парами рестрикционных эндонуклеаз *Bam*HI — *Hind*III или *Bam*HI — *Eco*RI и клонировали в плазмиду рBR322, предварительно расщепленную теми же ферментами. Полученные рекомбинантные плазмиды использовали для трансформации клеток *E. coli*, штамм HB101. Колонии, устойчивые к действию ампициллина и чувствительные к действию тетрациклина, гибридизовали с ³²P-меченой 16S рРНК из *H. halobium*. Для дальнейшего анализа были выбраны два клона, гибридизующиеся с 16S рРНК: клон рНТ1, содержащий вставку *Bam*HI — *Eco*RI, и клон рНТ6, содержащий вставку *Bam*HI — *Hind*III. Все процедуры, включающие в себя расщепление рестрикционными эндонуклеазами, лигирование, трансформацию и выделение рекомбинантных плазмид, проводили так, как описано в сборнике [21].

Определение первичной структуры гена 16S рРНК. Плазмиды рНТ1 и рНТ6 расщепляли парами рестрикционных эндонуклеаз *Bam*HI — *Pvu*II и *Bam*HI — *Kpn*I соответственно. Фрагменты *Bam*HI — *Pvu*II и *Bam*HI — *Kpn*I выделяли с помощью электрофореза в 1% агарозном геле, расщепляли рестрикционными эндонуклеазами *Sau*3A или *Taq*I, метили с помощью α -³²P-меченых нуклеозидтрифосфатов и фермента Кленова и анализировали. Анализ первичной структуры проводили методом частичной химической дегградации по Максому — Гилберту [10], а также «дидезокси»-методом Сэнджера [11].

ЛИТЕРАТУРА

1. Woese C. R., Fox G. E. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1977, v. 74, № 11, p. 5038-5092.
2. Nomura M., Post L. E. In: Ribosome: structure, function and genetics/Eds Chambliss G. et al. Baltimore: University Park Press, 1980, p. 761-791.
3. Philippsen P., Thomas M., Kramer R. A., Davis R. W. J. Mol. Biol., 1971, v. 123, № 3, p. 387-407.
4. Hofman J. D., Lau R. H., Doolittle W. F. Nucl. Acids Res., 1979, v. 7, № 5, p. 1321-1333.
5. Neumann H., Gierl A., Tu J., Leibrock J., Staiger D., Zillig W. Mol. Gen. Genet., 1983, v. 192, № 1, p. 66-72.
6. Mankin A. S., Kagramanova V. K., Belova E. N., Teterina N. L., Baratova L. A., Bogdanov A. A. Biochem. Int., 1982, v. 5, № 6, p. 719-726.
7. Kagramanova V. K., Манькин А. С. Тез. докл. на Международном советско-итальянском симпозиуме «Макромолекулы в функционирующей клетке». Киев, 1984, с. 48.
8. Mankin A. S., Teterina N. L., Rubtsov P. M., Baratova L. A., Kagramanova V. K. Nucl. Acids Res., 1984, v. 12, № 16, p. 6537-6546.
9. Southern E. M. J. Mol. Biol., 1975, v. 98, № 3, p. 503-517.
10. Maxam A. M., Gilbert W. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1977, v. 74, № 2, p. 560-564.
11. Sanger F., Nicklen S., Coulson A. R. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1977, v. 74, № 12, p. 5463-5467.
12. Kagramanova V. K., Mankin A. S., Baratova L. A., Bogdanov A. A. FEBS Lett., 1982, v. 144, № 1, p. 177-180.
13. Leffers H., Garrett R. A. EMBO J., 1984, v. 3, № 7, p. 1613-1619.
14. Gupta R., Lanter J. M., Woese C. R. Science, 1983, v. 221, № 3, p. 261-264.
15. Woese C. R., Magrum L. J., Gupta R., Siegel R. E., Stahl D. A., Kop J., Crauford N., Brosius J., Gutell R., Hogan J. J., Noller H. F. Nucl. Acids Res., 1980, v. 8, № 10, p. 2275-2293.
16. Noller H. F. In: Ribosome: structure, function and genetics/Eds Chambliss G. et al. Baltimore: University Park Press, 1980, p. 3-22.
17. Манькин А. С., Копылов А. М. Биогран. химия, 1981, т. 7, № 10, с. 1523-1531.
18. Matheson A. T., Yaguchi M., Nazar R. N., Visentin L. P., Willick G. E. In: Energetics and structure of halophilic microorganisms/Eds Caplan S. R., Ginzburg M. Amsterdam: Elsevier/North Holland, 1978, p. 481-501.
19. Vicentin L. P., Chow C., Matheson A. T., Yaguchi M., Rollin F. Biochem. J., 1972, v. 130, № 1, p. 103-110.
20. Nazar R. N., Willick G. E., Matheson A. T. J. Biol. Chem., 1979, v. 254, № 4, p. 1506-1512.
21. Maniatis T., Fritsch E. F., Sambrook J. Molecular cloning. A laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbor, 1982.

Поступила в редакцию
19.X.1984

THE NUCLEOTIDE SEQUENCE OF THE GENE CODING FOR THE 16S rRNA
FROM ARCHAE BACTERIUM *HALOBACTERIUM HALOBIUM*

KAGRAMANOVA V. K., MANKIN A. S., TETERINA N. L., RUBTSOV P. M.*,
KOPYLOV A. M., BARATOVA L. A., BOGDANOV A. A.

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

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

The complete nucleotide sequence of the 16S rRNA gene 1473 bp long from archaeobacterium *Halobacterium halobium* has been determined. Alignment with sequences of 16S rRNA genes from archaeobacteria *Halobacterium volcanii* and *Halococcus morrhua* reveals equal degree of homology, viz 88%. Variations between primary structures of the *H. halobium* and eubacterial (*Escherichia coli*) 16S rRNA or eukaryotic (*Dictyostelium discoideum*) 18S rRNA are much wider, the homology being 63 and 56%, respectively. A comparison of nucleotide sequences of the *H. halobium* 16S rRNA and its archaeobacterial counterparts confirms a secondary structure model of RNA from the small subunit of the archaeobacterial ribosome.