



УДК 577.113.5

ПЕРВИЧНАЯ СТРУКТУРА ПРОЛИНОВОЙ тРНК
БАКТЕРИОФАГА Т5Шляпников М. Г., Галиман А. В., Брюков В. М.,
Баев А. А.*Институт биохимии и физиологии микроорганизмов
Академии наук СССР, Пущино Московской обл.*

В последнее время в нашей лаборатории проводится изучение первичной структуры транспортных РНК, кодируемых бактериофагом Т5, а также изучение организации генов этих РНК. В частности, установлена структура транспортных РНК, специфичных к глутамину, лейцину, аспарагину и аспарагиновой кислоте [1–3]. Клонированы и секвенированы гены гистидиновой и двух сериновых тРНК [3, 4]. В настоящей статье приводятся данные по определению первичной структуры пролиновой тРНК фага Т5, ранее обозначенной как РНК II [5].

Равномерно меченная фосфором-32 тРНК^{Pro} была выделена из инфицированных фагом Т5 клеток *E. coli* с использованием на последней стадии двумерного электрофореза в ПААГ (рис. 1) [4, 5]. Ее структура установлена классическим блочным методом анализа [³²P]РНК [6]. Единственное существенное отличие заключалось в применении для фракционирования различных смесей олигонуклеотидов двумерной ТСХ на целлюлозе вместо электрофоретической системы Сэнджера [4].

Как видно из нуклеотидной последовательности тРНК^{Pro}, представленной в форме «клеверного листа» (рис. 2), она содержит в отличие от остальных изученных тРНК фага Т5 [1–3] все канонические элементы структуры, характерные для подавляющего большинства тРНК, за ис-

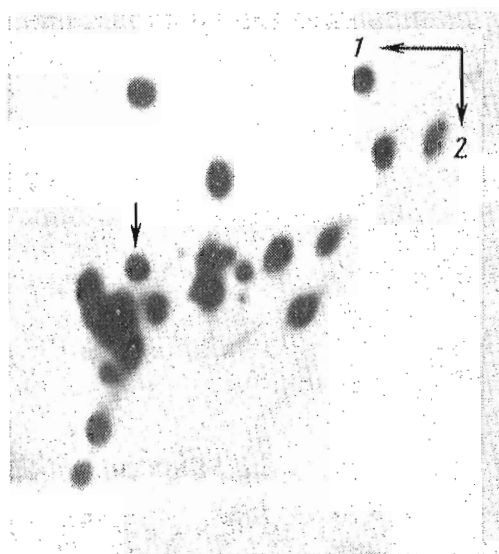


Рис. 1. Двумерный электрофорез в ПААГ фракции 4–5S [³²P]РНК фага Т5. Первое направление – 10% ПААГ, 7 М мочевины, трис-борат, 10 В/см, 16° С; второе направление – 20% ПААГ, 4 М мочевины, трис-борат, 15 В/см, 26° С. Стрелкой отмечено положение тРНК^{Pro}

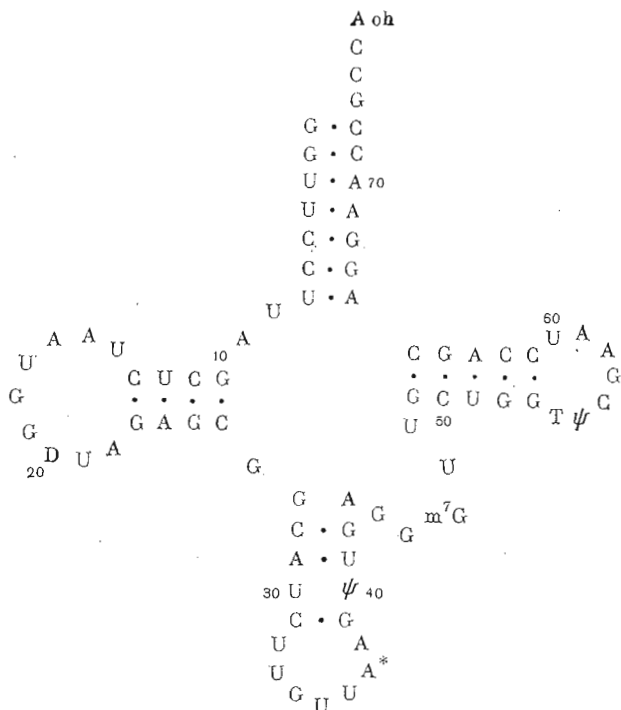


Рис. 2. Первичная структура тРНК^{Pro} фага Т5 в форме «клеверного листа». Нумерация нуклеотидных остатков соответствует нумерации в дрожевой тРНК^{Phe} [3]

ключением позиции 38, в которой нуклеотидный остаток G встречается крайне редко. Как и в случае других тРНК фага Т5, выделенных аналогичным образом, основания в позициях 37(m⁷G) и 46(m⁷G) тРНК^{Pro} модифицированы не полностью (примерно на 70%), что, вероятно, связано с условиями мечения РНК фосфором-32 *in vivo* [1, 2].

тРНК^{Pro} фага Т5 обладает относительно высокой гомологией с пролиновой тРНК фага Т4 (70%), особенно в акцепторной шпильке, и с тРНК₁^{Pro} *E. coli* (67%). Она имеет немодифицированное основание в первом положении антикодона, в то время как практически у всех тРНК, кроме митохондриальных, остаток уридина U в данном положении тем или иным образом модифицирован [3]. По аналогии с митохондриальными тРНК [7] из этого следует, что антикодон UGG тРНК^{Pro} может узнавать все четыре пролиновых кодона CCN (где N=U, C, G или A). Подобная ситуация наблюдается также в случае тРНК^{Leu} [2] и, по-видимому, тРНК₁^{Ser} [4] фага Т5.

ЛИТЕРАТУРА

1. Shlyapnikov M. G., Kaliman A. V., Kazantsev S. I., Kryukov V. M., Bayev A. A. // Biochim. et biophys. acta. 1984. V. 782. № 3. P. 313-319.
2. Shlyapnikov M. G., Kazantsev S. I., Kryukov V. M., Bayev A. A. // FEBS Lett. 1985. V. 192. № 2. P. 299-302.
3. Sprinzl M., Gauss D. H. // Nucl. Acids Res. 1984. V. 12. P. r1-r131.
4. Kryukov V. M., Ksenzenko V. N., Kaliman A. V., Bayev A. A. // FEBS Lett. 1983. V. 158. № 1. P. 123-127.
5. Казанцев С. И., Чернов А. П., Шляпников М. Г., Крюков В. М., Баяев А. А. // Докл. АН СССР. 1979. Т. 247. № 3. С. 744-748.
6. Barrell B. G. // Procedures in nucleic acid res. 1971. V. 2. P. 751-779.
7. Heckman J. E., Sarnoff J., Alzner-DeWeerd B., Yin S., Raj-Bhandary U. L. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1980. V. 77. № 6. P. 3159-3163.

Поступило в редакцию
14.VIII.1986

THE NUCLEOTIDE SEQUENCE OF THE BACTERIOPHAGE T5 PROLINE tRNA

SHLYAPNIKOV M. G., KALIMAN A. V., KRYUKOV V. M., BAYEV A. A.

*Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms,
Academy of Sciences of the USSR, Pushchino, Moscow Region*

The uniformly ^{32}P -labeled bacteriophage T5 proline tRNA has been isolated from phage-infected *E. coli* cells by two-dimensional PAGE. Its nucleotide sequence has been determined by conventional techniques (using TLC on cellulose for oligonucleotide fractionation) as follows: pCUCCGAUUAGCUCAAAUUGGCDAGAGUACACCGUUUGGm⁴-CGCCGUGGGm⁷GUUGAAGGT ψ CGAGUCCUUCAUUGGAGACCA_{OH}. The tRNA has the anticodon sequence UGG, which can presumably recognize the four proline-specific codons (CCN). It has 70% homology with phage T4 tRNA^{Pro}.