



ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 577.143.5:577.175

СИНТЕЗ, КЛОНИРОВАНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕРВИЧНОЙ
СТРУКТУРЫ κДНК ПРООПИОМЕЛАНКОРТИНА ИЗ ГИПОФИЗА
НОРКИ (*MUSTELLA VISON*)

Головин С. Я., Бондарь А. А., Каргинов В. А.*,
Морозов И. В., Зеленин С. М., Попова В. С.,
Мертвецов Н. П.

Новосибирский институт биоорганической химии Сибирского
отделения Академии наук СССР;

*Институт клинической и экспериментальной медицины Сибирского
отделения Академии медицинских наук СССР, Новосибирск

Проопиомеланокортин (ПОМК) представляет собой белок-предшественник целого ряда пептидных гормонов гипофиза: аденокортикотропина (АКТГ), α,β,γ-меланотропинов, β-липотропина (βЛПГ), β-эндорфина [1]. Экспрессия гена ПОМК в организме млекопитающих находится под мультигормональным контролем [2]. Ценную информацию о тканевой специфичности синтеза ПОМК, о тонких механизмах гормональной регуляции экспрессии его гена можно получить, используя методы рекомбинантных ДНК. Клонированные ДНК-копии, синтезированные на матричных РНК ПОМК, служат молекулярными зондами при локализации генов ПОМК на хромосомах с помощью гибридизации *in situ*.

Ранее были клонированы и секвенированы ДНК, комплементарные мРНК ПОМК быка [3], свиньи [4], человека [5], а также фрагменты геномной ДНК, кодирующие ПОМК мыши [6], быка [7], человека [8] и крысы [9]. Существенный интерес представляет клонирование и структурный анализ мРНК ПОМК из других видов млекопитающих, а также последующий сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей, выявляющие консервативных и варьируемых участков молекулы мРНК.

В настоящей работе впервые осуществлено клонирование и определение первичной структуры фрагмента ДНК-копии мРНК проопиомеланокортина норки (*Mustella vison*). Гипофизы норки получали из Экспериментального хозяйства Института цитологии и генетики СО АН СССР сразу после забоя животных и замораживали в жидком азоте. Суммарную РНК из ткани гипофиза выделяли при помощи фенольной депротеинизации или центрифугированием ткани, обработанной 4 М гуанидинизотиоцианатом, через слой 5,7 М CsCl [10]. Синтез одно- и двухцепочечной комплементарной ДНК проводили при помощи обратной транскриптазы вируса птичьего миелобластома.

Клонирование κДНК ПОМК норки в составе плазмиды pBR327 осуществляли GC-коннекторным методом по стандартной схеме [10], используя для трансформации штамм *E. coli* JC 5183. Поиск клонов, содержащих κДНК ПОМК, проводили путем гибридизации *in situ* бактериальных колоний с синтетическим олигонуклеотидом TTC-ATG-ACC-TCC-GA, кодирующим участок β-эндорфина; выбор структуры зонда определялся тем, что нуклеотидная последовательность этого участка одинакова у всех ранее секвенированных генов ПОМК млекопитающих.

1. Imura H., Kato Y., Nakai Y., Tanaka I., Jingami H., Koh T., Yoshimasa T., Tsudaka T., Suda M., Sakamoto M., Morii M., Takahashi H., Tojo K., Sugawara A. // *J. Endocrinol.* 1985. V. 107. № 1. P. 147-157.
2. Vale W., Vaughan J., Smith M., Yamamoto G., Rivier J., Rivier C. // *Endocrinology.* 1983. V. 113. N 3. P. 1121-1131.
3. Nakanishi S., Inoue A., Kita T., Nakamura M., Chang A. C. Y., Cohen S. N., Numa S. // *Nature.* 1979. V. 278. № 5703. P. 423-427.
4. Boileau G., Barbeau C., Jeannotte L., Chrétien M., Drouin J. // *Nucl. Acids Res.* 1979. V. 11. № 22. P. 8063-8071.
5. Головин С. Я., Каргинов В. А., Бондарь А. А., Беклемишев А. Б., Чехранова М. К., Мервцевов Н. П., Панков Ю. А. // *Биоорганич. химия.* 1987. Т. 13. № 4. С. 562-564.
6. Notake M., Tobimatsu T., Watanabe Y., Takahashi Y., Mishina M., Numa S. // *FEBS Lett.* 1983. V. 156. № 1. P. 67-71.
7. Nakanishi S., Teranishi Y., Watanabe Y., Notake M., Noda M., Kakidani H., Jingami H., Numa S. // *Eur. J. Biochem.* 1981. V. 115. № 2. P. 429-438.
8. Takahashi H., Hakamata Y., Watanabe Y., Kikuno R., Miyata T., Numa S. // *Nucl. Acids Res.* 1983. V. 11. № 19. P. 6847-6858.
9. Drouin J., Chamberland M., Charron J., Jeannotte L., Nemer M. // *FEBS Lett.* 1985. V. 193. № 1. P. 54-58.
10. Мануарис Т., Фрич Э., Сэмбрун Дж. Молекулярное клонирование. М.: Мир, 1984. С. 192.
11. Maxam A. M., Gilbert W. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1977. V. 74. № 2. P. 560-564.

Поступило в редакцию
30.I.1987

После доработки
22.V.1987

SYNTHESIS, CLONING AND SEQUENCING OF THE PROOPiomELANOCORTIN cDNA FROM THE PITUITARY GLAND OF MINK *MUSTELLA VISON*

GOLOVIN S. Ya., BONDAR A. A., KARGINOV V. A.*,
MOROSOV I. V., ZELENIN S. M., POPOVA V. C.,
MERTVETSOV N. P.

*Novosibirsk Institute of Bioorganic Chemistry, Siberian Division, Academy
of Sciences of the USSR;*

** Institute of Clinic and Experimental Medicine, Siberian Division, Academy
of Medical Sciences of the USSR, Novosibirsk*

Total RNA was extracted from *Mustella vison* pituitary gland, and cDNA for pro-opiomelanocortin mRNA was synthesised and cloned. A 600 b. p. insert encoding for total ACTH, β LPH and 3'-nontranslated end of the mRNA was sequenced using the Maxam - Gilbert technique.