



УДК 577.152.277*6.088

ГЕНЫ, КОДИРУЮЩИЕ РНК-ПОЛИМЕРАЗУ БАКТЕРИЙ
II. КОНСЕРВАТИВНЫЕ УЧАСТКИ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЧАСТИ
 β -СУБЪЕДИНИЦЫ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ *PSEUDOMONAS PUTIDA*

Бородин А. М., Данилкович А. В., Алликметс Р. Л.,
Ажикина Т. Л., Чернов И. П., Росташов В. М.,
Монастырская Г. С.

Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва

Для поиска функционально важных участков РНК-полимеразы бактерий мы используем структурно-эволюционный анализ, который основан на сравнении структуры гомологичных белков различных организмов. Консервативность определенных областей может свидетельствовать об их функциональной значимости [1].

В данной работе приведена первичная структура фрагмента *Sall*-L-*groBC*-оперона *Pseudomonas putida*, соответствующего центральной части гена β -субъединицы РНК-полимеразы [2]. Последовательность нуклеотидов *Sall*-L-фрагмента (861 п. о.), клонированного в двух ориентациях в фаге M13mp11, определяли по методу Сэнгера [3] с использованием синтетических праймеров [4]. Анализ структуры данной части гена β -субъединицы РНК-полимеразы *P. putida* и *E. coli* позволил выявить несколько консервативных участков (рисунок). Один из них соответствует району, в котором локализовано большинство мутаций устойчивости РНК-полимеразы *E. coli* к рифампицину и стрептолидигину [1,5—7]. В кодируемый им фрагмент входит последовательность аминокислот His-Pro-Thr-His-Tyr-Gly-Arg-Val-Cys. В составе этой последовательности имеются аминокислоты (рисунок), которые могут участвовать в связывании ионов цинка [8]. РНК-полимераза *E. coli* содержит два иона цинка, причем один из них связан с β -субъединицей, вероятно, в каталитическом центре фермента [9]. Установлено, что в связывании Zn^{2+} β -субъединицей РНК-полимеразы участвуют сульфгидрильные группы [10], поэтому в состав сайта связывания Zn^{2+} , кроме указанных аминокислот, вероятно, может входить один из остатков цистеина β - или β' -субъединицы РНК-полимеразы. Нуклеотидная гомология соответствующих частей генов β -субъединиц РНК-полимераз *P. putida* (*Sall*-L-фрагмент) и *E. coli* составляет 75%, а аминокислотная — 76%.

Таким образом, выявлена высокая консервативность РНК-полимераз *P. putida* и *E. coli* в районе, определяющем устойчивость к рифампицину и положения аминокислотных остатков, возможно участвующих в связывании ионов цинка.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ovchinnikov Yu. A., Monastyrskaya G. S., Guryev S. O., Kalinina N. F., Sverdlov E. D., Gragerov A. I., Bass I. A., Kiver J. F., Moiseyeva E. P., Igumnov V. N., Mindlin S. I., Nikiiforov V. G., Khesin R. B. // Mol. Gen. Genet. 1983. V. 190. № 3. P. 344—347.
2. Бородин А. М., Данилкович А. В., Алликметс Р. Л., Монастырская Г. С. // Биоорган. химия. 1988. Т. 14. № 4. С. 560—562.
3. McGraw R. A. // Anal. Biochem. 1984. V. 143. № 2. P. 298—303.
4. Sanchez-Peskador R., Urdea M. S. // DNA. 1984. V. 3. № 4. P. 339—343.
5. Lisitsyn N. A., Sverdlov E. D., Moiseyeva E. P., Danyilevskaya O. N., Nikiiforov V. G. // Mol. Gen. Genet. 1984. V. 194. № 1. P. 173—174.
6. Луцицын Н. А., Гурьев С. О., Сverdlov E. D., Моисеева Е. П., Никифоров В. Г. // Биоорган. химия. 1984. Т. 10. № 1. С. 127—132.

Val Asp Asp Ile Asp His Leu Gly Asn Arg Arg Val Ile Ser
 GTC GAC GAC ATC GAC CAC CTG GGT AAC CGT CGC GTA CCG TGC GTC GGC GAG ATG GGC
 T T C C C A T C T A

Glu Asn Gln Phe Arg Val Gly Leu Val Arg Val Glu Arg Ala Val Lys Glu Arg Leu
 GAC AAC CAG TTC CGC GTT GGC CTG GTG CGT CTC GAG CCG GGC GTC AAG GAA GGC CTG
 A A A A A A A G A G T

Leu Gly Asp Leu Asp Thr Met Ile Met Ile
 Ser Met Ala Glu Ser Glu Gly Leu Met Pro Gln Asp Leu Ile Asn Ala Lys Pro Val
 TCG ATG CCG GAA ACC GAC CTG ATC AAC GCC AAG CCG GCA A T
 T C GC T CTG T AC A G T A

Ser
 Ala Ala Ala Val Lys Glu Phe Phe Gly Ser Ser Gln Leu Ser Gln Phe Met Asp Gln
 CCG GCA GCG GTC AAA GAG TTC TTC GGT TCC AGC CAG CTG TCC CAG TTC ATG GAC GAC
 T C A T T C T T

Asn Asn Pro Leu Ser Glu Ile Thr His Lys Arg Arg Ile Cys Ser Ala Leu Gly Pro Gly
 AAC AAC CCT CTC TCG GAG ATT ACC CAC AAG CGC CGC TGC TCC GCA CTC GGC CCT CCG
 G G T G G A T AT

Gly Leu Thr Arg Glu Arg Ala Gly Phe Glu Val Arg Asp Val His Pro Thr His Tyr
 GGT CTG ACC CGT GAG CGT GAC GGC TTC GAA GTC GGT GTA CAC CAC CCG ACC CAC TAT C
 A A A A A A T A

Gly Arg Val Cys Pro Ile Glu Thr Pro Glu Gly Pro Asn Ile Gly Leu Ile Asn Ser
 GGC CGT GTG TCC CCG ATC GAG ACC CCT GAA GGT CCG AAC ATC GGT CTG ATC AAC TCC
 T C A T A

Ser Val Gln Glu Tyr Thr Pro Tyr Arg Lys
 Ala Ala Tyr Ala Arg Thr Asn Gln Tyr Gly Phe Leu Glu Ser Pro Tyr Arg Lys
 CCG GGC TAT GCC CCG ACC AAC CAG TAC GGC TTC CTG GAA ACC CCG TAC CCG GGC
 T C TG C A AG T G A A G C T T T AAA

Thr Asp Thr Glu His Tyr Gly Ser Ala Ile Glu Gln Gly
 Val Lys Glu Gly Val Val Thr Asp Asp Ile Val Phe Leu Ser Ala Ile Glu Gln Ala
 GTG AAG GAA GGC GTT GTC ACC GAC GAC ATC CTG TTC CTG TCG GCA ATC GAA GAG GCA
 CC C T A CT A T CAC A T T

Asn Tyr Asp His Val Ile Ala Gln Ala Ser Ala Ala Met Asn Asp Lys His Gln Leu Ile Asp
 GAT CAC GTC ATC GCA CAG GCT TCG GCC GCG ATG AAC GAC AAG AAG CAA CTC ATC GAT
 A C T T C G AAC T AAC T GT A G A GGC C T T C G A A

Asp Thr Cys Ser Lys Gly Ser Ser Leu Phe Ser Arg Asp Glu
 Glu Leu Val Ala Val Arg His Leu Asn Glu Phe Thr Val Lys Ala Pro Glu Asp Val
 GAG CTG GTA GCA GTT CGT CAC CTG AAC GAA TTC ACC GTC AAG GCC CCG GAA GAC GTC
 C A T TGC AG AAA GG C G T G TTC AGC GC C C G T

Asp Tyr Thr Leu Met Asp Val Ser Thr Gln Gln Val Val Ser Val Ala Ala Ser Leu Ile Pro
 ACC CTG ATG GAC GTT TCG CCG AAG CAG GTT GTT TCC GTC GCA CCG TCG CTG ATT CCG
 GA TAC A C A C C G A C GT C C

Phe Leu Glu His Asp Asp Ala Asn Arg Ala Leu Met Gly Thr Gly Met Gln Arg Gln
 TTC CTC GAG CAC GAC GAC GCC AAC CCT CGC TFC ATG GGT TCG AAC ATG CAG CGT CAG
 G A T A

Ala Val Pro Thr Leu Arg Ala Asp Lys Pro Leu Val Gly Thr Gly Met Glu Arg Ala
 GGT GTA CCG ACC CTG CGT GCC GAC AAG CCG CTG GTA GGT ACC GGC ATG GAG CCG AAC
 C T T C T T T T A T GCT

Val Ala Arg Val Asp Ser Thr Ala Ala Lys Val Val Arg Arg Gly Gly Val Ile Gln Tyr
 GTT CCC CCT GAC TCC GGT GTC TGC GTG GTT CCG GCG CCG GGT GGT Val Ile Asp Ser
 GT A CT C A GC AAA T T C G T C G AC

Val Asp 1
 GTC GAC 2
 G T 3
 4

Нуклеотидные и аминокислотные последовательности центральной части генов *rhoB* *P. putida* (2,3; *Sall*-L-фрагмент) и *E. coli* (1,4; 1405—2266 п. о. гена *rhoB* [11]). В рам-
 ку заключен участок, в котором локализовано большинство мутаций устойчивости к
 рифампицину и стрептолидингину. Аминокислотные остатки, предположительно участ-
 вующие в связывании ионов Zn^{2+} , подчеркнуты

7. Лисицын Н. А., Свердлов Е. Д., Мусеева Е. П., Никифоров В. Г. // Биоорганическая химия. 1985. Т. 11. № 1. С. 132—134.
8. Berg J. M. // Science. 1986. V. 232. № 4749. P. 485—487.
9. Solaiman D., Wu F. Y. H. // Biochemistry. 1985. V. 24. № 19. P. 5077—5083.
10. Giedroc D. P., Coleman J. E. // Biochemistry. 1986. V. 25. № 17. P. 4969—4978.
11. Ovchinnikov Yu. A., Monastyrskaya G. S., Gubanov V. V., Guryev S. O., Chertov O. Yu., Modyanov N. N., Grinkevitch V. A., Makarova I. A., Marchenko T. V., Povolniskova I. N., Lipkin V. M., Sverdlov E. D. // Eur. J. Biochem. 1981. V. 116. № 3. P. 621—629.

Поступило в редакцию
9.11.1988

**GENES CODING FOR BACTERIAL RNA-POLYMERASE.
II. CONSERVATIVE REGIONS IN THE CENTRAL PART OF THE
β-SUBUNIT OF THE *PSEUDOMONAS PUTIDA* RNA-POLYMERASE**

BORODIN A. M., DANILKOVICH A. V., ALLIKMETS R. L.,
AZHYKINA T. L., CHERNOV I. P., ROSTAPSHOV V. M.,
MONASTYRSKAYA G. S.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry,
Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

Sall — L fragment of the *P. putida* *rpoBC* operon has been sequenced and conservative regions of the central part of the RNA-polymerase β-subunit have been determined. Amino and acid residues interacting with Zn²⁺ are postulated.