



УДК 577.113.5

© 1991 г.

В. Л. Колосов, А. А. Бухаров*, А. С. Золотарев*

ФОТОСИСТЕМА II РЖИ. НУКЛЕОТИДНАЯ
ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ГЕНОВ *psbD*, *psbI*, КОДИРУЮЩИХ
БЕЛКИ РЕАКЦИОННОГО ЦЕНТРА

Институт фотобиологии АН БССР, Минск;

* Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина АН СССР, Москва

Определена структура участков хлоропластной ДНК ржи, содержащих гены *psbD* и *psbI*, которые кодируют соответственно белок D2 и полипептид I — компоненты реакционного центра фотосистемы II. На расстоянии 111 п.о. за стоп-кодоном гена *psbI* на противоположной цепи ДНК расположен ген *trnS(GCU)*, кодирующий тРНК серина. Показана высокая консервативность BamHI-фрагментов ржи и пшеницы, включающих в себя эти гены. Обсуждается функция некоторых консервативных аминокислотных остатков белка D2.

В настоящее время в нескольких лабораториях выделяют минимальный по полипептидному составу препарат, обладающий фотохимической активностью реакционного центра ФС II. Показано, что он состоит из белков D₁, D₂, двух субъединиц цитохрома b₅₅₉ и низкомолекулярного полипептида I [1, 2].

Все полипептиды РЦ ФС II, за исключением полипептида I — продукта гена *psbI*, теряют N-концевой аминокислотный остаток формилметионина [3, 4]. Первый аминокислотный остаток зрелого полипептида D₂, продукта гена *psbD*, ацетилируется по аминогруппе и, когда пластохиноновый пул восстановлен, фосфорилируется по гидроксигруппе [4]. Этот белок образует карман (Q_A) для связывания первичного хинонного акцептора электронов. Методом направленного мутагенеза показано, что аминокислотный остаток Tyr¹⁶⁰ белка D₂ играет роль окислительно-восстановительной группы, функция которой не определена [5, 6].

Ген *psbD* обычно котранскрибируется с геном *psbC*, и в высших растениях транскрипты этих генов представляют собой набор мРНК разных размеров [7]. При освещении этиолированных проростков сосудистых растений происходит светозависимое изменение пула транскриптов этих генов. Так, у ячменя наряду с четырьмя транскриптами гена *psbD* появляются два добавочных. Образовавшиеся на свету мРНК необходимы для поддержания уровня синтеза продуктов генов *psbD*, *psbC* в зрелых хлоропластах, где уровень продуктов гена фотосинтеза *psbB* уменьшается в то же время в 3—5 раз [8]. Инициация аккумуляции новых транскриптов генов *psbD*, *psbC* контролируется рецепторами голубого света и связана с синтезом de novo продукта ядерной ДНК [9]. Фитохром регулирует амплитуду ответа [9]. Предполагается, что контроль за накоплением мРНК осуществляется на уровне транскрипции или трансляции ядерного гена [9]. На примере *Chlamydomonas reinhardtii* показано также, что ядерные мутации влияют как на синтез и/или деградацию белка D₂ [10], так и на стабильность его мРНК [11].

Синтез белка D₂ протекает на тилакоидсвязанных рибосомах [12]. В этиолированных проростках белок не обнаружен [13]. Однако было показано, что [³⁵S]метионин включается в белок D₂ в этиопластах ячменя

Сокращения: ФС II — фотосистема II, хлДНК — хлоропластная ДНК, ОРС — открытая рамка считывания, РЦ — реакционный центр.

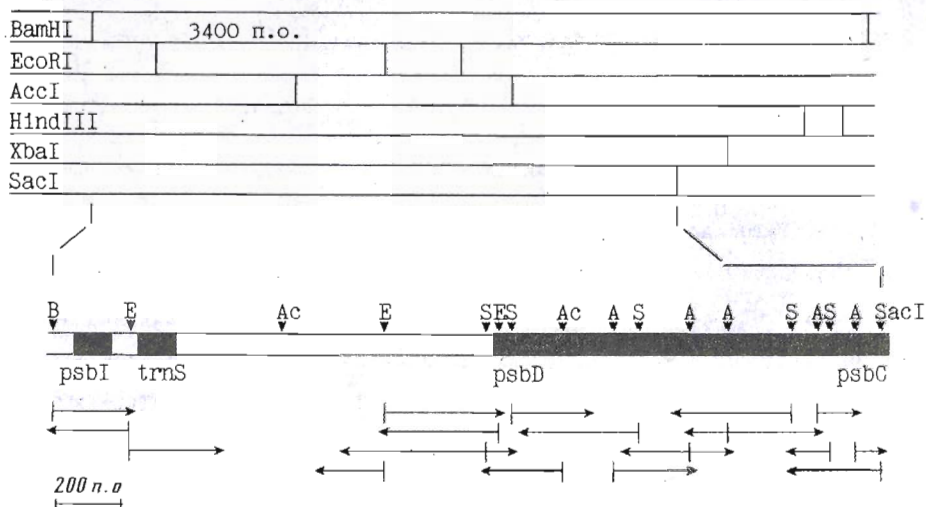


Рис. 1. Рестриктивная карта фрагмента В15' хлДНК ржи, содержащего гены *psbI*, *trnS*, *psbD* и *psbC* (зачернены). Стрелками указано направление секвенирования и протяженность нуклеотидных последовательностей. Все гены, за исключением *trnS*, транскрибируются слева направо. Показаны также сайты эндонуклеаз: А — *AluI*, Ас — *AccI*, В — *BamHI*, Е — *EcoRI*, S — *Sau3A*

(в отличие от белков D1, CP43 и CP47), и это, вероятно, указывает на нестабильность белка D2 в отсутствие других апопротеинов [14]. Кроме того, белок D2, вероятно, контролирует синтез или стабильность белка D1 [15]. Таким образом, трансляция белка D2 в этиоластах, по-видимому, требуется для быстрой активации белка D1 при освещении этиолированных проростков [8].

В предшествующих работах [16—19] нами была определена нуклеотидная последовательность ряда генов хлоропластной ДНК (хлДНК) ржи, кодирующих полипептиды фотосистемы II (ФС II). В настоящей работе установлена нуклеотидная последовательность генов *psbD* и *psbI*, кодирующих 32- и 4,5-кДа полипептиды, а также гена *trnS*(GCU), кодирующего тРНК^{Ser}.

При определении нуклеотидной последовательности гена *psbD* использовали полученную ранее рекомбинантную плазмиду рТSecВ15' [19]. Для поиска гена *psbI* был синтезирован олигонуклеотидный зонд d(GGAGATTGTGTAATGCTTACTCTCAAACCTCTTC), соответствующий 5'-кодирующей области гена *psbI* табака [20]. В результате блот-гибризационного анализа электрофореграммы хлДНК, обработанной рестриктазой *BamHI*, была идентифицирована область фрагментов с размерами 3,1—3,4 т. п. о., содержащая ген *psbI*.

Рекомбинантную плазмиду, несущую ген *psbI*, как и ранее, получили методом направленного клонирования фрагментов ДНК [16]. Одна из плазмид была использована для определения структуры гена. При построении рестриктивной карты фрагмента, содержащего ген *psbI*, и в результате гибридационного анализа выяснилось, что ген (либо его часть) содержится в том же фрагменте длиной 3,4 т. п. о., что и ген *psbD*.

На рис. 1 приведена рестриктивная карта фрагмента В15', включающего в себя гены *psbI*, *trnS*, *psbD* и 5'-кодирующую область гена *psbC*, и показана стратегия секвенирования генов *psbI* и *psbD*.

Для определения структуры генов *psbD* и *psbI* плазмиду рТSecВ15' первоначально разрежали совместно рестриктазами *EcoRI* и *SacI*. Смесь фрагментов фракционировали электрофорезом в 1,2% агарозном геле. Фрагмент *EcoRI*-900* и фрагмент *EcoRI/SacI*-1100, включающий в себя ген *psbD*, переносили электрофорезом на мембрану NA-45 с последующей элюцией с нее ДНК.

* Цифра здесь и в аналогичных обозначениях соответствует длине данного фрагмента (п. о.).

psbI→
M L T

1 GGATCCGTGTGGTAAGGAAAAAAGCTGGAATCTATTCCTTAAAAAAAATCTTGGAGATTATGTAATGCCTTAC

73 TCTCAAACSTTTTGTATTATACAGTAGTGATATCTTTGTTTCACTCTTTATCTTTGGATTCTTATCTAATGA
L K L F V Y T V V I F F V S L F I F G F L S N D
T CGTT T T TT

145 CCCAGGACGGAATCCTGGACCGGAGGAGTAAAAATTCAT--TTTTTTTTTCTTACAAATTTGGATTTGTTTCG
P G R N P G R E E *
G

217 TACATTTTATCTATGAAAAATCCGGGGGCTCAGAATCTTTTCCAATTCGAAAGTCCCAAATGATCCAAGGGAG

289 CGGAAAGAGAGGGATTTCGAAACCCCTCGGTACAAAAAATTGTACAACGGATTAGCAATCCGCCCGCTTTAGTCC
←trnS T

361 ACTCAGCCATCTCTCCAGGTCCCAAAGCGAAAGCTTCCCGTGATATGATATAGGCAAGAAATAAGAAATAAC
A T A

433 GGTGCAAAAAACCCCT--TTTTTTTCTTTCCAAAGCTATAAAAAATATATATGCCAATTCCATTTTAGTTAT
a b

505 ATTCTTTTTTCTTAATGTAAATAAAAAAAGAAGAAAAATCTCTGTTTTTTCTTTCTAAAAATCGATATGGCC

577 GAGAGACAATCAAATAGATTTTCTCTTTAGCGGGCATTTCCATATAGGACTTGTTATAATTATA

Рис. 2. Нуклеотидная последовательность участка хлДНК ржи, содержащего гены *psbI* и *trnS*. Выше ее приведены нуклеотидные замены в соответствующем участке хлДНК пшеницы. Дефисами обозначены делетированные нуклеотиды. Ниже нуклеотидной последовательности кодирующей цепи показана соответствующая ей последовательность аминокислот. Подчеркнуты предполагаемый участок связывания рибосом и «повторы» *a* и *b*

Плазмиду рTSecB15' разрезали также другой парой рестриктаз — *Bam*HI и *Eco*RI. Смесь фрагментов и ранее элюированный *Eco*RI-фрагмент клонировали в соответствующие фаговые векторы M13mp18/mp19. Комплементарные цепи одноцепочечной фаговой ДНК идентифицировали, отжигая друг на друга.

Фрагмент *Eco*RI/*Sac*I-1100 гидролизovali рестриктазами *Sau*3A и *Alu*I и полученный набор фрагментов клонировали в соответствующие фаговые векторы. Матрицы для секвенирования отбирались путем Т-теста. На стадии секвенирования гена *psbD* выяснилось, что в отличие от аналогичных генов пшеницы [21] и табака [22] *Eco*RI-сайт расположен в кодирующей области гена. Для выяснения недостающей 5'-концевой части был получен субфрагмент *Acc*I-800. Гидролиз субфрагмента рестриктазами *Eco*RI и *Sau*3A с последующим переклонированием в фэг M13 позволил также перекрыть и стык в последовательности *Eco*RI-сайта.

Ранее был клонирован *Bam*HI-фрагмент хлДНК пшеницы (B15) длиной 3,25 т. п. о., содержащий ген *psbD*, и установлена нуклеотидная последовательность его участка размером 1440 п. о., включающего в себя открытую рамку считывания (ОРС36), ген *trnS* и 5'-кодирующую область гена *psbD* [23, 24]. В нашем случае фрагмент ржи имеет размер 3,4 т. п. о. Однако, учитывая высокое сходство электрофореграмм хлДНК обоих злаков, обработанных рестриктазой *Bam*HI [16], и результаты по установлению частичной нуклеотидной последовательности фрагмента из пшеницы [24], мы посчитали необходимым для удобства сохранить его порядковый номер B15' (фрагмент B15 ржи длиной 3,25 т. п. о. содержит ген *psbB* [16]).

На рис. 2 приведена нуклеотидная последовательность участка фрагмента B15', содержащего ОРС36, соответствующую гену *psbI*, и ген *trnS*. За геном *psbI* инвертированных повторов не обнаружено. На расстоянии 111 п. о. за стоп-кодоном расположен ген *trnS*(GCU), кодирующий тРНК^{Ser}. Нуклеотидные последовательности генов *trnS* ржи и пшеницы [24] совпадают и имеют пять замен по отношению к соответствующему гену табака [22].

Сравнение нуклеотидных последовательностей генов *psbI* ржи и табака [22] выявило 13 нуклеотидных замен (гомология 88%), из которых 12 приходится на третью позицию синонимичных кодонов. Нуклеотидные последовательности генов *psbI* ржи и пшеницы идентичны [24]. Особое внимание обращают на себя результаты сравнения нетранслируемых областей обоих злаков. На рис. 2 видна их необычайно высокая консерва-

тивность (гомология 96,8%), вероятно, характерная и для самих пластов ржи и пшеницы.

Ген *psbI* кодирует полипептид I (4,5 кДа), имеющий вблизи N-конца гидрофобную область, потенциально способную к образованию трансмембранной α -спиральной структуры. Стехиометрическое отношение этого полипептида и остальных компонентов минимального препарата РЦ, близкое к 1, позволило предположить, что этот полипептид является пятой субъединицей комплекса РЦ ФС II [2]. Его C-концевая область обогащена заряженными остатками.

На рис. 3 показана другая, более протяженная рамка, соответствующая гену *psbD*, причем в 3'-кодирующей области гена *psbD* ржи, аналогично другим растениям, начинается новая рамка, соответствующая другому гену РЦ ФС II — *psbC* [19] (на рис. 3 не обозначено). Область перекрывания генов составляет 50 п. о.

Таким образом, нами определена нуклеотидная последовательность генов *psbI-trnS-psbD-psbC-trnS* хпДНК ржи с фланкирующими областями, за исключением участка длиной около 200 п. о. между генами *trnS* и *psbD* [19]. Такое взаимное расположение генов характерно и для хпДНК риса, у которой к тому же между генами *psbI* и *psbD* обнаружена открытая рамка считывания — ОРС100 [25]. Недавно идентифицирован промотор перед геном *psbD* хпДНК табака, что делает вероятным его наличие в соответствующих областях риса и пшеницы [25]. Другие данные указывают на отсутствие промоторной области между генами *psbI* и *psbD* пшеницы, что предполагает совместную транскрибируемость гена *psbI* с генами *psbD* и *psbC* [3, 24].

На рис. 2 и 3 отмечены короткие последовательности хпДНК ржи («повторы» *a*, *b* и *c*), аналогичные ранее выявленным на хпДНК пшеницы [24]. Ранее анализ концевых последовательностей протяженной инверсии размером 20 т. п. о. выявил повторы, рекомбинация которых способна привести к данной инверсии [26]. Однако указанные во фрагменте В15' повторы последовательности не участвуют в инверсиях пластома пшеницы [24]. Сравнительный анализ 5'-концевых областей гена *psbD* ржи, ячменя и риса выявил у последних делецию размером 42 п. о., приходящуюся на два «повтора» *c* у ржи и пшеницы (рис. 3) [24, 27, 28].

Сравнение нуклеотидных последовательностей гена *psbD* ржи и табака выявляет 95 нуклеотидных замен (гомология 91%), из которых 9 являются значащими. Из 9 нуклеотидных замен в структуре гена ячменя [28] по сравнению с геном ржи только одна в 5'-кодирующей области приводит к консервативной замене Ile на Val (рис. 4).

Первичный продукт трансляции гена *psbD*, как и гена *psbA*, содержит 353 аминокислотных остатка и характеризуется высоким содержанием аминокислотных остатков гидрофобной природы (47%). В настоящее время считается, что белки D1 и D2 подобно своим бактериальным гомологам имеют по пять трансмембранных сегментов (ТМС), на концах которых обычно располагаются остатки пролина и глицина (рис. 4).

Проведенное сравнение первичных структур полипептидов D1 [18] и D2 РЦ ФС II показало их относительно высокое сходство (гомология 26%), причем имеются четко выраженные участки большей гомологии (40—60%), которые совпадают с 3-м, 4-м и 5-м трансмембранными тяжами.

Сравнительный анализ аминокислотных последовательностей белков D2 различных видов кислородвыделяющих фотосинтетиков (рис. 4), как и следовало ожидать, обнаруживает их значительную консервативность. Так, по одной замене приходится на 13 остатков Trp, 8 His, по две на 15 остатков Pro и 9 Met, причем большая часть замен приходится на концевые участки белка.

Плодотворным методом изучения белков D1 и D2 явилось сравнение структур их полипептидных цепей со структурами субъединиц L и M бактериального РЦ. Белок D2 является аналогом M-субъединицы. Так, аминокислотные остатки His¹⁹⁸ белков D1 и D2 связывают, вероятно, две молекулы хлорофилла *a*, образующие так называемую специальную пару. Атом негемового железа, функция которого пока не определена, стабили-

1 CTTAGACTTAGACCGCGCAAGACAAGAATTTTTCGCTATTTACGATTTTCATATTTCTTGTACTAGATGTTCT
 73 ATAGGAATAAGAAGAAATCGCAACTCCTTTGCGCTACACATAAAATTTGATTTTCGAAGGTCCATTTTTTTTTT
 145 TTCAGAATCCTCTATTTTAGTTCTTCCACCCATGCAATAGACAGGGAATGGGAAAAAGAAGGTTACTTTTAT
 217 TTTCATTTTCCCTTAAAAGATAGACTTTGAAAATAGGAGTCTTGGAAATAATGCTGAATTCAAAGGTTTATTT
 289 CTTTCTATAGTATAA----GAAAAACAATTTATTTCTATTTCTTTCTATAGTATAAGAAAAACAATAGTAT
 361 AAGAAAAACAATTCGAATCAAATTCATGGATTTACCACGACCTCGATTTGTGACTCCATAGATAAAAAATAGGA
 433 AATTTCTCTCTTCGAGACCATTGAAAAAGGCATTGAACGAGAAAGAAATCGTCCACAGATAATAAAACTAT
 505 CATATGCCTTGGAAAGTGATATGAGGTGCTCGGAAATGGTTGAAGTAATGAATAGGAGGATCACTATGACT
 577 ATAGCCCTTGGTAGAATTCCTAAAGAAGAAAATGATCTATTTGATACTATGGATGACTGGTTACGAAGGGAC
 649 CGTTTCGTTTTTGTAGGATGGTCTGGCCATTTGCTCTTCCCTTGTGCTTATTTTCGCTTTAGGGGGTTGGTT
 721 ACAGGGACAACCTTTGTAACCTTCTGGTATACCCATGGATTTGGTAGTTCCATTTTGGAAAGGTTGAATTTCT
 793 TTAACCCGACGAGTTTCTACCTTCCGCAATAGTTTAGCACACTCTTTGTGCTACTATGGGGGCCGAAGCA
 865 CAAGGAGATTTTACTCCTTGGTGTCAATTAGGGGCTATGGACTTTTGTAGCTCTCCAGGGGGCTTTTGCA
 937 CTAATAGGTTTCATGTTACGCCAATTTGAACTTGTCTGATCTGTCAATTTGGGGCTTATAATGCAATCTCA
 1009 TTCTCTGGTCCAATTTGCTGTTTTTGTCTTCTGATTTCCCTATTTATCCACTGGGGCAATCTGCTTGGTTCTTT
 1081 GCGCCGAGTTTTGGCCTAGCAGGATATTTTCGATTCATCCTTTTCTTCCAGGATTTTCATAATTTGGACGTTG
 1153 AACCCATTTTCATATGATGGGAGTTGCCGGAGTATTAGGTGCAGCTCTGCTATGGCCTATTCATGGAGCGACC
 1225 CTAGAAAACACTCTATTTGAGGACGGTATGCTGCAAAATACCTTCCCTGCTTTTAAACCCAACTCAAGCTGAA
 1297 GAAACTTATTCATGCTCACTGCTAAACCGCTTTTGGTCCCAAATCTTTGGTGTGCTTTTCCAAATAAACGT
 1369 TGTTACATTTCTTTATGCTATTTGTACCCGTCACCGGTTTATGGATGAGTGTATTTGGCGTAGTTGGCTTG
 1441 GCTCTGAACTTACGTCCTATGACTTTGTTTCCAGGAAATCCGTCAGCGGAAGATCCTGAATTTGAGACT
 1513 TTCTACASSAAAAATATCTTTTAAACGAGGGTATTCGTCGCTGGATGGCAGCTCAGGATCAGCCTCATGAA
 1585 AATCTTATATTCCTGAGGAGGTTCTACCACCTGGAAACGCTCTTAA
 N L I F P E E V L P R G N A L *

psbD→
M T

Рис. 3. Нуклеотидная последовательность участка хлДНК ржи, содержащего ген *psbD*. Выше ее приведены нуклеотидные замены в соответствующем участке хлДНК пшеницы. Дефисами обозначены делегированные нуклеотиды. Ниже нуклеотидной последовательности кодирующей цепи показана соответствующая ей последовательность аминокислот. Подчеркнуты предполагаемый участок связывания рибосом и «повтор» с

вирован в комплексе РЦ координационными связями с четырьмя остатками гистидина D1²¹⁵, D1²⁷², D2²¹⁵, D2²⁶⁹, а в качестве пятого лиганда может выступать остаток глутаминовой кислоты D2²²⁵. Вероятными кандидатами в связывании пластохинонов Q_A и Q_B выступают аминокислоты Trp²⁵⁴ (D2) и Phe²⁵⁵, Ser²⁶⁴ (D1) [31].

Методами направленного мутагенеза и ЭПР-спектроскопии показано, что абсолютно консервативные остатки Trp¹⁶⁰ (D2) и Trp¹⁶¹ (D1), расположенные в области третьих трансмембранных сегментов белков D1 и D2,

70

1 MTIALGRIPKEENDLFDTMDDDLRRDRFVFCVMSGLLLFPCAYPALGGWFTGTTFVTSWYTHGLASSYLE
 2V.....
 3KFT.D.....I.....V.....
 4V.KFT.D.K.....S.....
 5KFT.DQ.....I.....V.....
 6I.KSS.PKG.....S.....
 7I.KTYQ.KRTW.DA.....Q.....L.....T.....
 8V.-RAPV.RGW.VL.....K.....I.F.....FM.....L.....

140

1 GGNFLTAAYSTPANSLAHSLLLLWGPEAQGDFTRWCQLGGLWTFVALHGAFALIGFMLRQFELARSVQLR
 2
 3G.....
 4A.....
 5L.....G.....
 6G.....
 7M.....FV.....A.....G.....I.....N.....
 8A.....V.....S.DAFG.....F.....NL.....F.I.....P.....G.....IS.L.GI.....

210

1 PYNATSPSGPIAVFVSVFLIYPLQSGWFFAPSPGVAAIFRFILFFQGFHNWTINPFHMMGVAGVILGAAL
 2
 3A.....
 4A.....
 5A.....
 6A.....
 7A.A.....
 8A.....M.....H.S.....G.....L.....I.G.....

280

1 LCAIHGATVENTLFDGDCGANTFRANFPTQAAEETYSMVTANRFWSQIFGVAFSNKRWLHFFMLFVVPVGL
 2
 3
 4
 5
 6S.....
 7L.....
 8EDS.....E.....I.....

350

1 WMSAIGVVGLALNLRAYDFVFSQETRAAEDPEFETFYTKNILLNEGIRAWMAAQDPHENLIPPEEVLPRC
 2
 3L.....
 4L.....
 5L.....T.....
 6V.....
 7FFSIFIPNHLINGSYFFNKSQKQIVYI 81,6%
 8SV.I.....L.....M.....P.....F.....

- 1 NAL*
- 2 ... 99,7%
- 3 ... 97,3%
- 4 ... 97,0%
- 5 ... 96,6%
- 6 ... 94,9%
- 8 ... 84,1%

Рис. 4. Сравнение аминокислотных последовательностей продуктов гена *psbD* ржи (1) с последовательностями ячменя [28] (2), табака [22] (3), шпината [21] (4), гороха [29] (5), печеночного мха [29] (6), хламидомонады [29] (7), цианобактерии [30] (8). Подчеркнуты предполагаемые трансмембранные сегменты. Указан процент гомологии

выполняют функции окислительно-восстановительных центров D и Z соответственно, последний из которых участвует в переносе электронов от кислородвыделяющего комплекса на фотоокисленный P680⁺ [5, 6, 32].

В настоящее время считается, что с полипептидными цепями этих двух белковых компонентов РЦ ФС II так или иначе связаны все функциональные группы, обеспечивающие фотохимическое разделение зарядов на мембране.

Авторы выражают благодарность Е. С. Быстрову за синтез олигонуклеотидов.

Экспериментальная часть

Хлоропластную ДНК выделяли как описано ранее [16]. Гидролиз вели эндонуклеазами рестрикции фирм Amersham (Англия), BRL (США), НПО «Фермент» (Вильнюс).

Рестрикционный и гибридационный анализы проводили согласно работе [18]. Химический синтез олигонуклеотидов проводили фосфоамидитным методом на синтезаторе Applied Biosystems (США). Олигонуклеотиды метили по 5'-концу с помощью [γ - 32 P]АТФ (> 5000 Ки/ммоль, Amersham, Англия) и Т4-полинуклеотидкиназы [33].

Для элюции ДНК использовали нитроцеллюлозные фильтры NA45 (Schleicher and Schuell, США). Мембрану вставляли в надрез впереди полосы (фрагмента ДНК) и вели электрофорез до вхождения ДНК. Затем мембрану помещали в пробирку объемом 1,5 мл, заполненную 100—200 мкл элюирующего буфера (10 мМ трис-НСl, рН 8,0; 1 М NaCl) и прогревали 20 мин при 55° С. Осаждение ДНК вели равным объемом изопропилового спирта.

Переключивание субфрагментов в фаговые векторы M13mp18 и M13mp19, наработку одноцепочечной матрицы и определение нуклеотидных последовательностей проводили как описано ранее [16].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Namba O., Satoh K. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1987. V. 84. № 1. P. 109—112.
2. Ikeuchi M., Inoue Y. // Plant Cell Physiol. 1988. V. 29. № 7. P. 1233—1239.
3. Webber A. N., Packman L., Chapman D. J., Barber J., Gray J. C. // FEBS Lett. 1989. V. 242. № 2. P. 259—262.
4. Michel H., Hunt D. F., Shabanowitz J., Bennet J. // J. Biol. Chem. 1988. V. 263. № 3. P. 1123—1130.
5. Debus R. J., Barry B. A., Babcock G. T., McIntosh L. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1988. V. 85. № 2. P. 427—430.
6. Vermaas W. F. J., Rutherford A. W., Hansson O. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1988. V. 85. № 22. P. 8477—8481.
7. Berends T., Gamble P. E., Mullet J. E. // Nucl. Acids Res. 1987. V. 15. № 13. P. 5217—5240.
8. Gamble P. E., Sexton T. B., Mullet J. E. // EMBO J. 1988. V. 7. № 5. P. 1289—1297.
9. Gamble P. E., Mullet J. E. // EMBO J. 1989. V. 8. № 10. P. 2785—2794.
10. Kuchka M. R., Mayfield S. P., Rochaix J.-D. // EMBO J. 1988. V. 7. № 2. P. 319—324.
11. Kuchka M. R., Goldschmidt-Clermont M., van Dillewijn J., Rochaix J.-D. // Cell. 1989. V. 58. P. 869—876.
12. Herrin D., Michaels A., Hickey E. // Biochim. et biophys. acta. 1981. V. 655. № 2. P. 136—145.
13. Gamble P. E., Mullet J. E. // J. Cell Chem. 1989. V. 264. № 13. P. 7236—7243.
14. Klein R. R., Mullet J. E. // J. Biol. Chem. 1987. V. 262. № 9. P. 4341—4348.
15. Rochaix J.-D., Erickson J. // TIBS. 1988. V. 13. № 2. P. 56—59.
16. Бухаров А. А., Колосов В. Л., Золотарев А. С., Абдулаев Н. Г. // Биоорганич. химия. 1989. Т. 15. № 7. С. 927—939.
17. Колосов В. Л., Клезович О. Н., Абдулаев Н. Г., Золотарев А. С. // Биоорганич. химия. 1989. Т. 15. № 9. С. 1284—1286.
18. Колосов В. Л., Золотарев А. С. // Биоорганич. химия. 1990. Т. 16. № 8. С. 1060—1068.
19. Бухаров А. А., Колосов В. Л., Золотарев А. С. // Биоорганич. химия. 1990. Т. 16. № 9. С. 1210—1217.
20. Ikeuchi M., Inoue Y. // FEBS Lett. 1988. V. 241. № 1/2. P. 99—104.
21. Alt J., Morris J., Westhoff P., Herrmann R. // Curr. Genet. 1984. V. 8. № 8. P. 597—606.
22. Shinozaki K., Ohme M., Tanaka M., Wakasugi T., Hayashida N., Matsubayashi T., Zaita N., Chunwongse J., Obokata J., Yamaguchi-Shinozaki K., Ohto C., Torazawa K., Meng B. Y., Sugita M., Deno H., Kamogashira T., Yamada K., Kusuda J., Takaiwa F., Kato A., Tohdoh N., Shidama H., Sugiura M. // EMBO J. 1986. V. 5. № 9. P. 2043—2049.
23. Courtice G. R. M., Bowman C. M., Dyer T. A., Gray J. C. // Curr. Genet. 1985. V. 10. № 4. P. 329—333.
24. Howe C. J., Barker R. F., Bowman C. M., Dyer T. A. // Curr. Genet. 1988. V. 13. № 4. P. 343—349.
25. Hiratsuka J., Shimada H., Whittier R., Ishibashi T., Sacamoto M., Mori M., Kon-do C., Honji Y., Sun C.-R., Meng B.-Y., Li Y.-O., Kanno A., Nishizawa Y., Hirai A., Shinozaki K., Sugiura M. // Mol. Gen. Genet. 1989. V. 217. № 2/3. P. 185—194.
26. Howe C. J., Dyer T. A., Gray J. C. // EMBO J. 1985. V. 4. № 6. P. 1381—1388.
27. Shimada H., Sugiura M. // Curr. Genet. 1989. V. 16. № 4. P. 293—301.
28. Ефимов В. А., Андреева А. В., Ревердатто С. В., Чахматчева О. Г. // Биоорганич. химия. 1988. Т. 14. № 11. С. 1573—1576.
29. Umesono K., Inokuchi H., Shiki Y., Takeuchi M., Chang Z., Fukuzawa H., Kohchi T., Shirai H., Ohyama K., Ozeki H. // J. Mol. Biol. 1988. V. 203. № 2. P. 299—331.

30. Williams J. G., Chisholm D. A. // Progress in photos. res. V. 4 / Ed. Biggins J. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publ., 1987. P. 809—812.
31. Michel H., Deisenhofer J. // Biochemistry. 1988. V. 27. № 1. P. 1—7.
32. Debus R. J., Barry B. A., Sithole I., Babcock G. T., McIntosh L. // Biochemistry. 1988. V. 27. № 26. P. 9074—9074.
33. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии: молекулярное клонирование. М.: Мир, 1984.

Поступила в редакцию
13.III.1990

V. L. KOLOSOV, A. A. BUKHAROV*, A. S. ZOLOTAREV*

RYE PHOTOSYSTEM II: NUCLEOTIDE SEQUENCE OF *psbD*, *psbI* GENES CODING FOR POLYPEPTIDES OF THE REACTION CENTRE

Institute of Photobiology, Academy of Sciences of the Byelorussian SSR, Minsk;

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

Structures of the rye chloroplast DNA regions, containing *psbD* and *psbI* genes coding for the components of the reaction centre of photosystem II, D2 protein and I polypeptide, respectively, have been determined. The gene *trnS* for tRNA^{Ser} (GCU) is located 111 bp downstream from the stop codon of the *psbI* gene on the opposite strand. The high homology between the rye *Bam*HI-fragment comprising these genes and his counterpart from wheat are discussed.]