



## ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 577.152.261\*5.088.5 : 577.113.5

© 1991 г.

С. М. Зеленин, В. С. Попова, И. В. Морозов,  
В. И. Тишков\*, А. М. Егоров\*\*, Н. П. Мерцвцов

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕРВИЧНОЙ СТРУКТУРЫ *Eco* RI-ФРАГМЕНТА  
№ 5 ГЕНА ТИРОЗИНАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ КРЫСЫ  
НА АВТОМАТИЧЕСКОМ СЕКВЕНАТОРЕ  
«APPLIED BIOSYSTEMS» 370A

Новосибирский институт биоорганической химии СО АН СССР, Новосибирск;

\*Институт биохимии им. А. Н. Баха АН СССР, Москва;

\*\* Химический факультет Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова

Тирозинаминотрансфераза (*L*-тирозин: 2-оксоглутарат—аминотрансфераза, КФ 2.6.1.5) относится к группе ферментов, участвующих в катаболизме аминокислот и индуцируемых гидрокортизоном. Индуцированный стероидными гормонами синтез тирозинаминотрансферазы является адекватной моделью для изучения реализации генетической информации у млекопитающих [1]. Ранее Шутцем и сотр. [2], а затем нами [3] был клонирован ген тирозинаминотрансферазы печени из геномной библиотеки крысы и проведен его рестрикционный анализ. Данные сравнительного анализа этих генов представлены в работе [3]; полная первичная структура гена тирозинаминотрансферазы неизвестна. Фрагменты клонированного нами гена, полученные при гидролизе эндонуклеазой рестрикции *Eco*RI, были субклонированы в составе бактериофага M13mp19.

Ниже представлены данные структурного анализа одного из *Eco*RI-фрагментов гена тирозинаминотрансферазы крысы, соответствующего по размеру *Eco*RI-фрагменту № 5 в классификации Шиномия и сотр. [2]. ДНК этого фрагмента была подвергнута гидролизу различными эндонуклеазами рестрикции (*Bsp*RI, *Sau*3A, *Bam*HI, *Ecl*136II, *Alu*I), а полученные субфрагменты клонировали в составе бактериофага M13mp19. Нуклеотидные последовательности субклонов определяли методом Сэнгера с использованием флуоресцентно меченных праймеров на автоматическом секвенаторе модели 370A фирмы «Applied Biosystems» (Англия). Было проанализировано 43 субклона. Полученные последовательности объединены с использованием пакета программ: «PCGENE» и оригинальной программы авторов.

Таким образом, определена нуклеотидная последовательность *Eco*RI-фрагмента гена тирозинаминотрансферазы длиной 1064 п. о., включающего конец экзона К, экзон L и часть 3'-нетранслируемой области мРНК (рисунок). Данный фрагмент является продолжением ранее секвенированного нами *Eco*RI-фрагмента гена тирозинаминотрансферазы длиной 3677 п. о., содержащего экзоны F, G, H, I, J и начало экзона K [4, 5], что сле-

E F E N D V E F T E R L I A E Q A V H C GAATTCGAGAACGACGTGGAGTTCACAGAGCGGTTGATTGCGGAGCAGGCTGTCCACTGT gaattcgaagaacgacgtggagttcacagagcggttgattgcgagcaggctgtccactgt	60
L P A T CTCCAGCAACGGTGAGTGGGGTGTGGGTATCTGCGGACATTCCAGCAGCCCTGCAA ctcccagcaacg	408 120
ACCGCAGAGGTCTTCCTGAGATGTGTTTTAGCCCCGACGTTTTCTCCCATACCAAGCATCC	180
TCCTTCATCACTATTCGCCCCCTCTCCTCCCCCTCCTCCCCACATCCCCCACCCCCC	240
TCCAAAAAAGGAAGAAAAGTTGGAAGCACAGTGGGCCGGAGGAAAGTTGTCGATTGTCTG	300
ATTTCAAGATGAATGAACTCAGTTATCAACTCAGTTCCTCCAGCGGAGTGAAAGGACGT	360
CCCTTAGTGGAATAGCATTACTGTCTTGCTCACTAGTGCCTGGCCAGTTTAAAGGTGATCC	420
C F E Y P N GGTTTGGTTGCCCTGGAGATAACTGGCCATTGTTTTGTCAGTGCTTCGAGTACCCAAATT tgcttcgagtacccaaatt	480
F F R V V I T V P E V M M L E A C S R I TCTTCCGAGTGGTCATCACAGTCCCCGAGGTGATGATGCTGGAGGCTTGTAGCCGGATCC tcttccgagtggtcatcacagtccccgaggtgatgatgctggaggcttgttagccggatcc	434 540
Q E F C E Q H Y H C A E G S Q E E C D K AGGAGTTCGTGAACAGCACTACCACTGTGCTGAAGGCAGCCAGGAGGAGTGTGACAAAT aggagttctgtgaacagcactaccactgtgctgaaggcagccaggaggagtgtgacaaat	454 630
* AAGCCCTCACCCGTCCTCCTGAAGACATGTCCCACGCAAGGACGGTTGGACTGGACCCGCT aagccctcacccgctcctcctgaagacatgtcccacgcaaggacggttggactggaccgct	690
CCTCCTCAGGGAGCCAAATGTCTCTGATGGGAGAGGAACCTCTAAAGCACCGCATGAAGA cctcctcagggagccaaatgtctctgatgggagaggaacctctaaagcaccgcatgaaga	720
CTTGAAGATCATTCTCCTTCCCCAGTTTCACCCAACGCACGCCTGGAAACCCAGACCC cttgaagatcatttctccttccccagtttcacccaacgcacgcctggaaacccagacc	780
CTCCCTACTCAGTTCTGCTGGAGCCATGAGCTCACTGCCCCCACCCCCACTTCTTTAT ctccctactcagttctgctggagccatgagctcactgccccccacccccacttcttat	840
CCTGAGGGTATCAGACCAATTTACCAGAAAGAAGCTGGGCCAAGAAAAGAGAGAGCTCAG cctgagggtatcagaccaatttaccagaaagaagctgggccaaagaaaagagagagctcag	900
GATGAGAGAAGCAGAAGACGGAGGATGCCTCTCCCACCCATTTCTCTCGTGTGACATCCT gatgagagaagcagaagacggaggatgcctctcccaccatttctctgctgctgacatcct	960
CTTCAGTCAGGTCCGAAGTCACCTCAGTTGCTGCCTCACTTCAGGCCAAACCTCACTCCTC cttcagtcagggtccgaagtcacctcagttgctgcctcacttcaggccaaacctcactcctc	1020
GTGGTACAGCTACACCAGAGAGAAGTCGAGGACTTGTGAATTC 3' gtggtacagctacaccagagagaagtcgaggacttgtgaattc	1083

Нуклеотидная последовательность *Eco*RI-фрагмента гена тирозинаминотрансферазы длиной 1064 п.о. В экзонах показана соответствующая последовательность мРНК [6] строчными буквами снизу и аминокислотная последовательность в однобуквенном коде, пронумерованная согласно работе [6], сверху

дует из совпадения структур соответствующих фрагментов гена тирозинаминотрансферазы и структуры мРНК тирозинаминотрансферазы печени крысы [6].

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мертвецов Н. П. // Регуляция экспрессии генов стероидными гормонами / Новосибирск: Наука, 1990. 262 с.
2. Shinomiya T., Scherer C., Schmid W., Zentgraf H., Schutz G. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1984. V. 81. № 5. P. 1346—1350.
3. Зеленин С. М., Морозов И. В., Тевс Н. Р., Горь В. В., Каргинов В. А., Мертвецов Н. П. // Биополимеры и клетка. 1989. Т. 5. № 6. С. 93—100.

4. Морозов И. В., Мишин В. П., Зеленин С. М., Попова В. С., Мертвецов Н. П. // Биополимеры и клетка. 1990. Т. 6. № 3. С. 95—96.
5. Morozov I. V., Mishin V. P., Zelenin S. M., Popova V. S., Mertvetsov N. P. // DNA Sequence. 1990. V. 1. № 2. P. 151—155.
6. Grange T., Guenet C., Dietrich G. B., Chasserot S., Fromont M., Befort N., Jami J., Beck G., Pictet R. // J. Mol. Biol. 1985. V. 184. № 2. P. 347—350.

Поступило в редакцию  
6.VII.1990

После доработки  
8.II.1991

S. M. ZELENIN, V. S. POPOVA, I. V. MOROZOV, V. I. TISHKOV \*,  
A. M. EGOROV \*\*, N. P. MERTVETSOV

NUCLEOTIDE SEQUENCE OF AN *ECORI*-FRAGMENT OF THE RAT  
TYROSINE AMINOTRANSFERASE GENE DETERMINED ON THE  
AUTOMATED SEQUENCER «APPLIED BIOSYSTEMS», MODEL 370A

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

*\*A. N. Bach Institute of Biochemistry, Academy of Sciences of the USSR, Moscow;*

*\*\*Department of Chemistry, M. V. Lomonosov Moscow State University, Moscow*

*EcoRI*-fragment No. 5 of the rat tyrosine aminotransferase gene containing exons K, L, intron 11, and a part of the 3'-nontranslatable region was digested with several restriction endonucleases (*BspRI*, *Sau3A*, *BamHI*, *Ecl136II*, *AluI*), the subfragments obtained were cloned into M13mp19 and sequenced using the Sanger technique with dye-labelled primers on the automated sequencer «Applied Biosystems», model 370A. The sequences were combined by means of a PC-GENE package and original programmes to yield the primary structure (1064 b. p.) of the above fragment No. 5, adjacent to the previously sequenced *EcoRI*-fragment No. 4 (3677 b.p.).