



УДК 547.963.3

**ВЫДЕЛЕНИЕ РНК-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ ЭКСТРАКТА МОЗГА
КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА
АФФИННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ НА ИММОБИЛИЗОВАННОЙ POLY(U)***Преображенский А. А., Елизаров С. М., Барулина Н. А.**Институт биохимии им. А. Н. Баха Академии наук СССР, Москва**Кафедра молекулярной биологии биологического факультета
Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова*

Проведена аффинная хроматография РНК-связывающих белков экстракта мозга на poly(U), ковалентно присоединенной 3'-концом к СМ-целлюлозе. Показано, что при аффинной хроматографии не происходит потери какой-либо фракции РНК-связывающего белка, необходимой для образования информосомоподобных частиц. Выделенные РНК-связывающие белки разделены хроматографией на ионообменных смолах на ряд фракций. Определены молекулярные веса полипептидных цепей во фракциях.

В нашей предыдущей статье [1] сообщалось об аффинной хроматографии РНК-связывающих белков на иммобилизованной рибосомной РНК. В настоящей работе для очистки РНК-связывающих белков предлагается методика аффинной хроматографии на poly(U), ковалентно присоединенной 3'-концом к СМ-целлюлозе (СМС-poly(U)). Преимущество этой методики перед ранее предложенной состоит в более высокой емкости аффинного сорбента и более низкой фоновой сорбции примесных белков.

Перед началом работы по хроматографии на иммобилизованной poly(U) проводился опыт с целью выяснить, реагирует ли poly(U) с РНК-связывающими белками в растворе. Поскольку в нашем распоряжении не было меченого препарата poly(U), о взаимодействии poly(U) с РНК-связывающими белками экстракта судили по ее конкуренции с меченой рРНК в связывании этих белков.

В двух пробах к одинаковому количеству экстракта добавляли либо меченую рРНК, либо смесь такого же количества меченой рРНК и немеченой poly(U) в соотношении 1 : 4 по весу. В третьей пробе к экстракту добавляли смесь меченой рРНК и немеченой тРНК в том же соотношении. После инкубации смеси пропускали через мембранные нитроцеллюлозные фильтры. В наших условиях на фильтрах сорбируются лишь комплексы РНК с белком, а свободная РНК не задерживается [2]. Выяснено (см. «Экспериментальную часть»), что присутствие в пробе четырехкратного избытка poly(U) вызывает примерно пропорциональное понижение связывания на фильтрах меченой рРНК (конкуренция равна 78%). Присутствие такого же количества тРНК вместо poly(U) не оказывает заметного влияния на связывание меченой рРНК на нитроцеллюлозных фильтрах.

Таким образом, из опыта по конкуренции следует, что РНК-связывающие белки экстракта обладают способностью взаимодействовать с poly(U). Связывания этих белков с тРНК либо вообще не происходит,

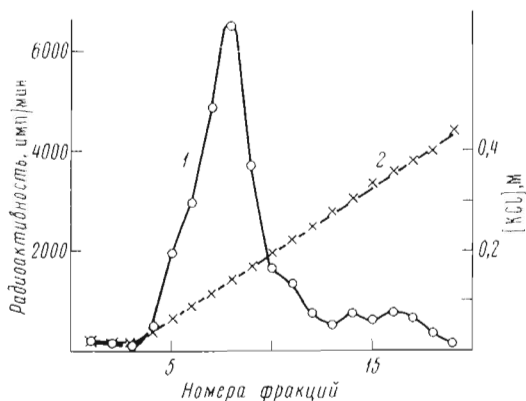


Рис. 1. Аффинная хроматография на СМС-poly(U): 1 — РНК-связывающая активность; 2 — [KCl], M

либо оно намного слабее взаимодействия с рРНК и poly(U). Отсутствие подавления связывания в пробах с тРНК свидетельствует также о том, что в выбранных концентрациях тРНК, как полианион, не оказывает неспецифического влияния на изучаемые РНК-белковые взаимодействия.

Для определения достаточного времени инкубации две одинаковые порции безрибосомного экстракта инкубировали 30 и 60 мин с избыточным количеством СМС-poly(U) (см. «Экспериментальную часть»), после чего устанавливали количество РНК-связывающих белков, задержанных аффинным сорбентом. Оказалось, что при выбранных временах инкубации связывание активных белков с СМС-poly(U) в обоих случаях равно 78%. Следовательно, во-первых, к 30 мин инкубации с СМС-poly(U) полностью связываются все белки, способные с нею взаимодействовать; во-вторых, существует некая фракция белков, обладающих РНК-связывающей активностью (около 20% общей активности в экстракте), которая не взаимодействует с иммобилизованной poly(U). Этот результат согласуется с полученными нами ранее [1] данными по аффинной хроматографии РНК-связывающих белков на иммобилизованной рибосомной РНК.

В контрольном опыте равные порции экстракта инкубировали с СМС-poly(U) и предобработанной СМ-целлюлозой, не содержащей poly(U). Было показано, что количество РНК-связывающих белков, неспецифически взаимодействующих с контрольной предобработанной смолой, составляет около 0,5% количества этих белков, взаимодействующих с СМС-poly(U). Следовательно, сорбция РНК-связывающих белков на СМС-poly(U) происходит в основном именно за счет связывания с ковалентно присоединенной poly(U).

Градиентная элюция РНК-связывающих белков, сорбированных на колонке с СМС-poly(U), приведена на рис. 1, из которого видно, что белки, обладающие РНК-связывающей активностью, элюируются с колонки широким пиком с максимумом при 0,14 M KCl.

Известно, что при смешивании РНК с избыточными количествами РНК-связывающих белков образуются искусственные рибонуклеопротеидные частицы строго постоянного состава: 1 весовая часть РНК и 3 весовые части белка. Эти комплексы, имеющие в растворе CsCl такую же плавучую плотность, как информосомы (около 1,4 г/см³), были названы информосомоподобными частицами [3, 4].

Представляло интерес выяснить, не теряется ли при аффинной хроматографии на СМС-poly(U) каких-либо фракций РНК-связывающих белков, необходимых для построения информосомоподобных частиц. В трех пробах к одинаковому количеству меченой 23 S-рРНК *E. coli* добавляли разные количества РНК-связывающих белков, и образованные рибонук-

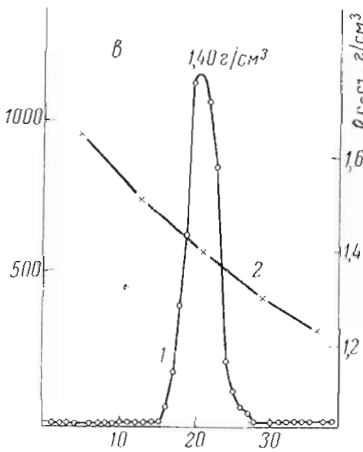
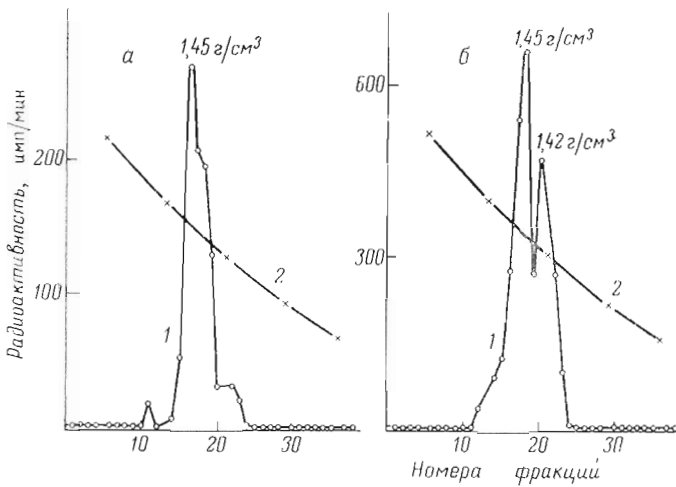


Рис. 2. Плотностное распределение в CsCl искусственных рибонуклеопротеидных частиц, которые образуются при смешивании ^{23}S - ^{14}C рРНК *E. coli* с РНК-связывающими белками, выделенными на колонке с СМС-poly(U). Отношение количества рРНК (имп/мин) к РНК-связывающей активности белка: а — 1 : 32, б — 1 : 110, в — 1 : 220

леопротеидные частицы анализировали равновесным центрифугированием в градиенте плотности CsCl. Из рис. 2 видно, что по мере увеличения соотношения белок/РНК в инкубационной смеси плавучая плотность образующихся комплексов уменьшается от 1,45 до 1,40 г/см³, т. е. при достаточном количестве белка в смеси могут образовываться нормальные информосомоподобные частицы. Следовательно, на СМС-poly(U) сорбируются все РНК-связывающие белки, необходимые для построения информосомоподобных частиц.

В дальнейшем РНК-связывающие белки, выделенные с помощью СМС-poly(U), фракционировали на DEAE- и СМ-целлюлозе.

На рис. 3 дан профиль элюции этих белков с колонки с DEAE-целлюлозой градиентом концентрации KCl. Около половины РНК-связывающих белков не задерживается на колонке, а остальные элюируются в виде четырех главных компонентов.

Фракцию белков, не задерживающихся на DEAE-целлюлозе, хроматографировали далее на колонке с СМ-целлюлозой. При пропускании через колонку градиента концентрации KCl РНК-связывающие белки элюируются двумя пиками (рис. 4).

Эти данные, свидетельствующие о гетерогенности РНК-связывающих белков по заряду, согласуются с данными о гетерогенности белков этого класса, опубликованными в работе [2]. Авторам указанной работы удалось разделить РНК-связывающие белки хроматографией на СМ-целлю-

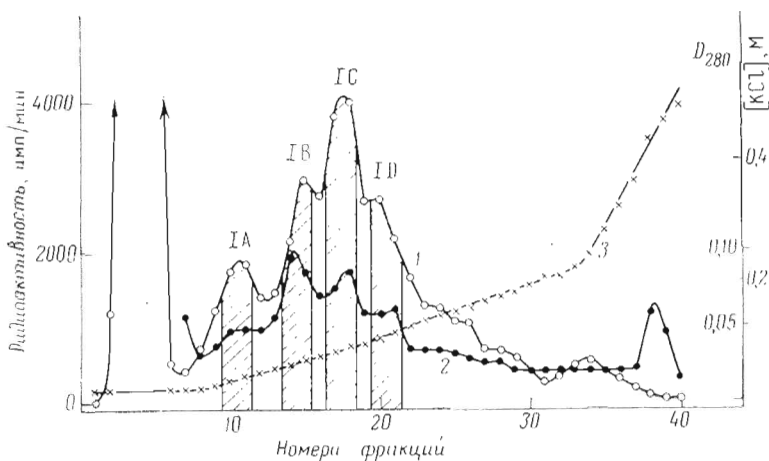


Рис. 3. Фракционирование на колонке с DEAE-целлюлозой РНК-связывающих белков, выделенных аффинной хроматографией на СМС-poly(U): 1 — РНК-связывающая активность; 2 — D_{280} ; 3 — [KCl], М

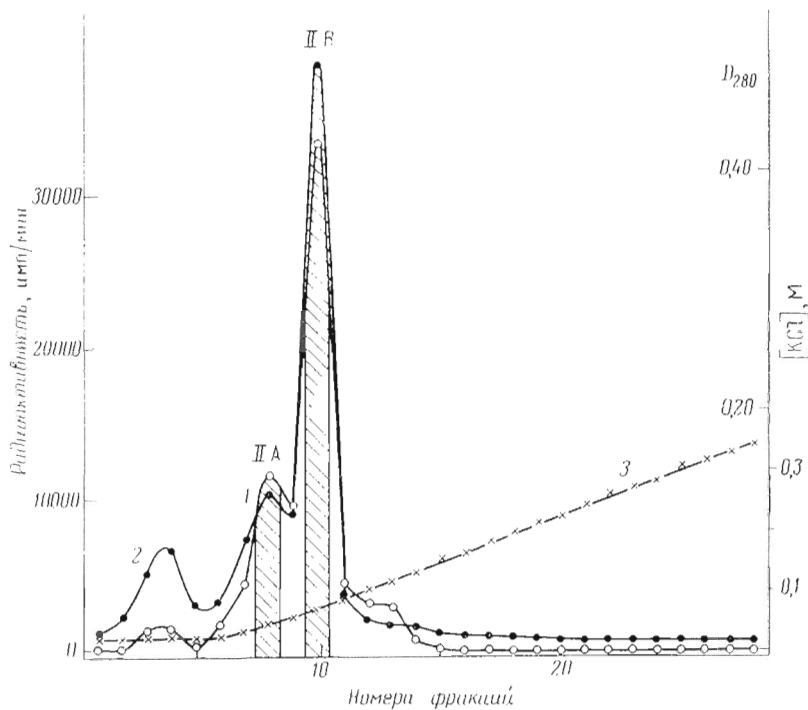


Рис. 4. Фракционирование на колонке с СМ-целлюлозой РНК-связывающих белков, выделенных аффинной хроматографией на СМС-poly(U): 1 — РНК-связывающая активность; 2 — D_{280} ; 3 — [KCl], М

лозе на две фракции: не задерживающиеся («белок I») и задерживающиеся на этой смоле («белок II»).

Принимая эту начальную номенклатуру, обозначим фракции РНК-связывающего белка, элюируемые с DEAE-целлюлозы солевым градиентом, IA (элюируется при 0,04 М KCl), IB (0,07 М KCl), IC (0,085 М KCl) и ID (0,105 М KCl). Фракции РНК-связывающего белка, элюируемые с СМ-целлюлозы, обозначим IIA (элюируется при 0,04 М KCl) и IIB (0,07 М KCl).

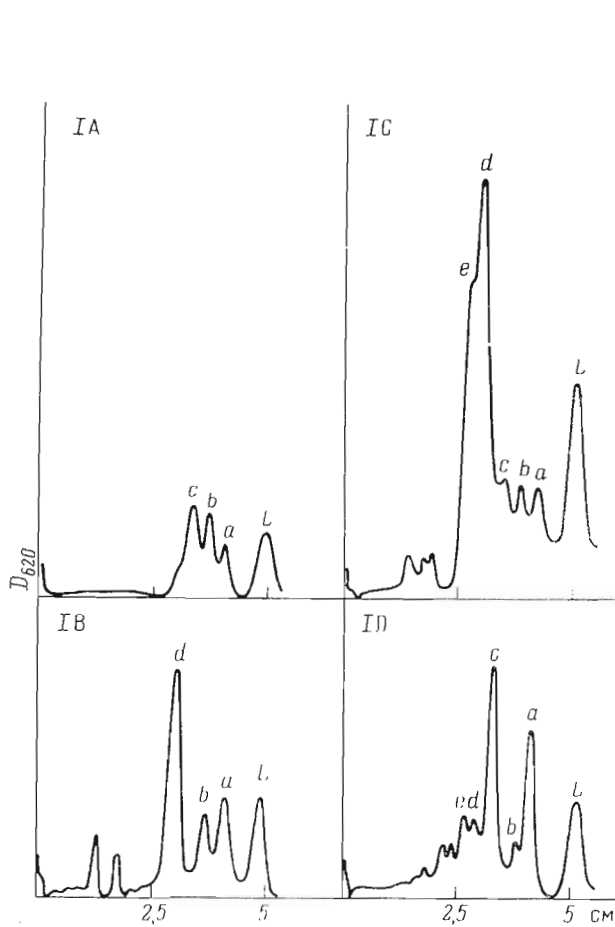


Рис. 5

Рис. 5. Электрофорез белков фракций IA — ID (см. рис. 3) в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия (молекулярные веса компонентов даны в таблице. L — лизоцим)

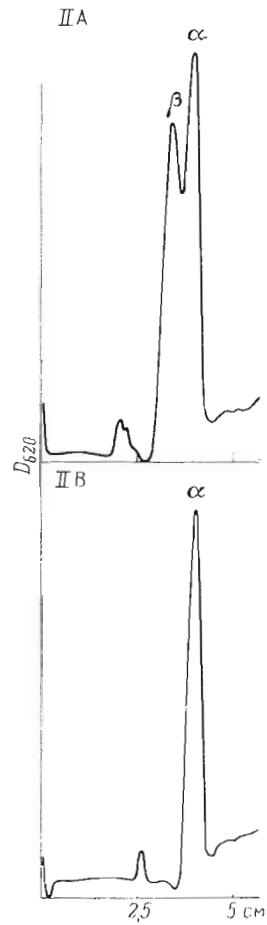


Рис. 6

Рис. 6. Электрофорез белков фракций IIA и IIB (см. рис. 4) в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия (молекулярные веса компонентов даны в таблице)

На рис. 5 представлен результат электрофореза в полиакриламидном геле фракций белка с DEAE-целлюлозы. Величины молекулярных весов полипептидных цепей, выявленных во фракциях, даны в таблице. Во фракции IA, судя по интенсивности окраски, в приблизительно эквимольных соотношениях присутствуют полипептидные цепи с M 27 000 (a), 35 000 (b) и 44 000 (c). Во фракции IB основные компоненты — a , b и полипептидная цепь с M 59 000 (d), присутствуют также два минорных компонента. Во фракции IC основные компоненты — d и e (M 73 000), в меньших количествах присутствуют a , b и c . Наконец, во фракции ID основные компоненты — a и c , в меньших количествах присутствуют b , d , e и несколько других минорных компонентов.

Результат электрофореза белков фракций IIA и IIB представлен на рис. 6. Фракция IIA содержит полипептидные цепи с M 32 000 (α) и 46 000 (β). Во фракции IIB основной компонент — полипептидная цепь α .

Таким образом, выделенные фракции РНК-связывающего белка обнаруживают как различия, так и сходство по набору полипептидных цепей. Действительно, сравнивая наборы полипептидных цепей во фрак-

Молекулярные веса полипептидных цепей во фракциях РНК-связывающих белков

Компоненты	Фракции белков, полученных при хроматографии					
	на ДЕАЕ-целлюлозе				на СМ-целлюлозе	
	IA	IB	IC	ID	IIA	IIB
Главные						
<i>a</i>	27 000	27 000		27 000		
<i>b</i>	35 000	35 000			32 000(α)	32 000(α)
<i>c</i>	44 000			44 000	46 000(β)	
<i>d</i>		59 000	59 000			
<i>e</i>			73 000			
Минорные						
<i>a</i>			27 000			
<i>b</i>			35 000	35 000		
<i>c</i>			44 000			
<i>d</i>				59 000		
<i>e</i>				73 000		
				84 000		84 000
				92 000	91 000	
			112 000	112 000	103 000	
		120 000	120 000	120 000		
		145 000	145 000			

Примечание. Обозначение фракций как на рис. 3 и 4 и компонентов как на рис. 5 и 6.

циях IA — ID, можно видеть, что полипептидные цепи *a* и *b* обязательно присутствуют в каждой из четырех фракций; в трех фракциях есть цепи *c* и *d*, а цепь *e* присутствует в двух фракциях. Для фракций IIA и IIB цепь α является общей. Следует отметить, что различия в величинах молекулярных весов для пар полипептидных цепей *b* и α , *c* и β (см. таблицу) не превышают ошибки примененного метода [5].

В нашей предыдущей работе [1] показано, что РНК-связывающие белки экстракта мозга при центрифугировании в сахарозном градиенте дают гетерогенное распределение с максимумами 9S и 5S. Глобулярные белки с такими коэффициентами седиментации должны обладать $M \sim 200\,000$ и $80\,000$ соответственно. Сопоставляя эти цифры со значениями молекулярных весов для полипептидных цепей во фракциях с колонок (таблица), можно заключить, что в экстракте РНК-связывающий белок должен образовывать четвертичные структуры.

Пока неясно, однако, как соотносятся по набору полипептидных цепей молекулы РНК-связывающего белка в экстракте и фракциях этого белка после очистки на СМС-poly(U) и хроматографии на ДЕАЕ- и СМ-целлюлозе.

В настоящее время о молекулярных весах полипептидных цепей цитоплазматических РНК-связывающих белков известно немного. Из экстракта ретикулоцитов кролика и цитоплазматического экстракта клеток HeLa были выделены РНК-связывающие белки с молекулярными весами полипептидных цепей, соответственно равными $37\,000$ [6] и $38\,000$ [7]. Препарат РНК-связывающего белка, выделенного из цитоплазматического экстракта печени крысы, содержал не менее 10 полипептидных цепей. Для 4 из них были определены значения M : $37\,000$, $43\,000$, $45\,000$ и $77\,000$ [8]. Как видно из этих данных и результатов настоящей работы, полипептидные цепи РНК-связывающего белка с $M\ 35\,000$ — $38\,000$ обнаружены во всех изучавшихся объектах.

Экспериментальная часть

Буферные растворы и реактивы. Стандартный буфер: $0,01\ M$ триэтаноламин-НСl, рН 7,80—7,85; $0,01\ M$ КСl; $0,001\ M$ MgCl₂; $0,001\ M$ меркаптоэтанол. Буфер А: $0,01\ M$ триэтаноламин-НСl, рН 7,80—7,85; $0,01\ M$

KCl; 0,005 M MgCl₂. Для гель-фильтрации использовали сефадекс G-25, грубый («Pharmacia Fine Chemicals», Швеция), для присоединения poly(U) — CM-целлюлозу «CM-32» («Whatman», Англия), для ионообменной хроматографии — DEAE-целлюлозу «DE-32» и CM-целлюлозу «CM-52» той же фирмы. Элюцию белка проводили растворами KCl в стандартном буфере. Меченную по углероду рибосомальную РНК *E. coli* получали и фракционировали, как подробно описано ранее [3]. Удельная радиоактивность 16S- и 23S-рРНК при просчете на жидкостном сцинтилляционном счетчике SL-40 («Intertechnique», Франция) в стандартной системе толуол — PPO-POPOP равнялась 11 000 имп/мин/мкг.

Poly(U) была синтезирована в системе с полинуклеотидфосфорилазой В. К. Райтом (Новосибирский государственный университет). Средняя длина полинуклеотидной цепи использованного препарата poly(U), определенная по скорости седиментации методом синтетической границы, как описано в работе [9], составляла 82 нуклеотида. В опыте по конкуренции использовали тотальную тРНК *E. coli* («Serva», ФРГ).

Получение безрибосомного экстракта. Постмитохондриальный супернатант мозга крупного рогатого скота, полученный как описано ранее [1], центрифугировали 90 мин при 105 000 g для осаждения рибосом. Затем экстракт пропускали через колонку с сефадексом G-25, уравновешенным буфером А. После гель-фильтрации экстракт центрифугировали 40 мин при 16 000 об/мин для удаления агрегатов. Все процедуры по получению и дальнейшему фракционированию экстракта проводили на холоду.

РНК-связывающую активность белка определяли методом сорбции рибонуклеопротеидов на мембранных нитроцеллюлозных фильтрах, как подробно описано ранее [2], и выражали в количестве меченой 23 S-рРНК (имп/мин), сорбированной на фильтре в присутствии данного количества белка.

Опыт по конкуренции. Готовили 3 пробы: 1) 16S-[¹⁴C]рРНК (0,16 ОЕ₂₆₀); 2) 16 S-[¹⁴C] рРНК (0,16 ОЕ₂₆₀) и poly(U) (0,64 ОЕ₂₆₀); 3) 16 S-[¹⁴C] рРНК (0,16 ОЕ₂₆₀) и тРНК (0,64 ОЕ₂₆₀). Объем проб доводили буфером А до 3,42 мл и добавляли по 0,08 мл безрибосомного экстракта (5,7 ОЕ₂₈₀ в 1 мл). Инкубировали 30 мин (4°), из каждой пробы отбирали 5 аликвот по 0,5 мл и определяли РНК-связывающую активность. Средние для 5 параллельных определений величины (имп/мин) и среднеквадратичные разбросы для проб 1—3 составляют 4918 ± 17, 1072 ± 17, 5026 ± 14% соответственно.

Получение СМС-poly(U). Poly(U), ковалентно присоединенную к целлюлозе, получали реакцией диальдегид-poly(U) с полигидразидным производным CM-целлюлозы [10]. Использовали полигидразид CM-целлюлозы с 90%-ным замещением карбоксильных групп на гидразидные. Реакцию диальдегид-poly(U) с активированным твердым носителем проводили при концентрации poly(U) 0,1—0,3 мг/мл и гидразида CM-целлюлозы — 20 мг/мл в 2 M Na-ацетатном буфере, pH 5,3, в течение 14 ч при 4°. В этих условиях 60% poly(U) ковалентно присоединяется к твердому носителю (определено, как описано в работе [1]). В опытах использовали препараты, содержащие 1,3—2,2 мг иммобилизованной poly(U) в 1 мл набухшей смолы (0,25 г сухой смолы). Для получения контрольной смолы полигидразид CM-целлюлозы подвергали всем обработкам, но без добавления poly(U).

Определение емкости СМС-poly(U). К 2 мл СМС-poly(U) в буфере А (60 ОЕ₂₆₀ связанной poly(U)) добавляли 10 мл экстракта (160 ОЕ₂₈₀, 46 млн. имп/мин). Инкубировали 60 мин при 4°, суспензию вносили в колонку диаметром 1,1 см. Смолу промывали буфером А до исчезновения в элюате белков (20 мл), после чего РНК-связывающие белки элюировали 1 M KCl на стандартном буфере (10 мл). РНК-связывающая активность элюата равнялась 42 млн. имп/мин. При инкубации такого же количества

СМС-poly(U) с 80 мл экстракта количество сорбированного на смоле РНК-связывающего белка не увеличилось.

Таким образом, емкость иммобилизованной poly(U) составила 0,7 млн. имп/мин. на 1 ОЕ₂₆₀.

Определение неспецифической сорбции. 2 мл контрольной смолы (без poly(U)) инкубировали 60 мин с 10 мл того же экстракта и проводили все операции, описанные выше для СМС-poly(U). Активность РНК-связывающих белков, сорбированных на контрольной смоле, составляла 0,23 млн. имп/мин (0,54%).

Определение времени инкубации. В две колонки диаметром 0,7 см вносили по 1 мл СМС-poly(U) (32 ОЕ₂₆₀ связанной poly(U)) в буфере А. В каждую колонку добавляли по 0,5 мл экстракта (3,75 ОЕ₂₈₀, 0,24 млн. имп/мин) и инкубировали его со смолой 30 или 60 мин при 4°. После инкубации и промывки буфером А (по 10 мл) РНК-связывающие белки элюировали 5 мл 1 М КСl. РНК-связывающая активность элюата для первой колонки была равна 0,188 млн. имп/мин, для второй — 0,187 млн. имп/мин, что составляет около 78% активности внесенного РНК-связывающего белка.

Градиентное элюирование РНК-связывающих белков с СМС-poly(U). В колонку 1,1 × 2,1 см (60 ОЕ₂₆₀ связанной poly(U)) вносили 1 мл экстракта (3 млн. имп/мин РНК-связывающей активности). После 40 мин инкубации экстракта в колонке и отмывки от несвязавшихся белков 20 мл буфера А через колонку пропускали линейный градиент концентрации КСl (от 0,01 до 0,43 М). Собирали фракции по 2 мл за 9 мин (рис. 1).

Выделение РНК-связывающих белков для фракционирования на колонках с ионообменниками и получения информосомоподобных частиц. 9 мл СМС-poly(U) (360 ОЕ₂₆₀ иммобилизованной poly(U)) смешивали со 100 мл экстракта (294 млн. имп/мин РНК-связывающей активности) и после инкубации при перемешивании на магнитной мешалке в течение 60 мин переносили в колонку диаметром 1,1 см. После отмывки от несвязавшихся белков 90 мл буфера А РНК-связывающие белки элюировали 6 мл 0,3 М КСl. Затем солевой раствор диализовали против трех смеч по 360 мл стандартного буфера, центрифугировали от агрегатов, как описано выше, после чего фракционировали на колонках с ионообменниками. РНК-связывающие белки для получения информосомоподобных частиц выделяли точно так же из 100 мл экстракта той же партии. После элюции с СМС-poly(U) 0,3 М КСl раствор белка (8,5 мл) замораживали и хранили в сухом льду 6 сут. Перед опытом солевой раствор диализовали против стандартного буфера и центрифугировали от агрегатов, как описано выше.

Получение информосомоподобных частиц и их центрифугирование в градиенте плотности хлористого цезия. В трех пробирках по 50 мкл (46 000 имп/мин) раствора 23 S-[¹⁴C]pРНК добавляли 0,62; 2,1 и 4,2 мл препарата РНК-связывающего белка с удельной активностью 2,415 млн. имп/мин/мл. Отношения радиоактивности РНК к РНК-связывающей активности белка соответственно были равны 1 : 32; 1 : 110; 1 : 220. После 30 мин инкубации при 4° образованные частицы фиксировали формальдегидом и центрифугировали в градиенте плотности хлористого цезия, как описано в работе [1].

Хроматография на колонках с ионообменниками. В колонку с DEAE-целлюлозой. (1 × 13,5 см), уравновешенную стандартным буфером, вносили 8,8 ОЕ₂₈₀ препарата белка, выделенного как описано выше. Проводили элюцию стандартным буфером, затем градиентом концентрации КСl (см. рис. 3) со скоростью 5 мл/ч. Собирали 40 фракций по 2,5 мл. Фракции, элюированные с DEAE-целлюлозы стандартным буфером и содержавшие 4,3 ОЕ₂₈₀, объединяли и хроматографировали на колонке с СМ-целлюлозой (1 × 10 см). Проводили элюцию стандартным буфером, затем градиентом КСl (см. рис. 4) со скоростью 5 мл/ч. Собирали 30 фракций по 2,5 мл.

Электрофорез белков в полиакриламидном геле. В полиакриламидном геле анализировали материал фракций элюата (отмечены штриховкой на рис. 3 и 4). Белки осаждали двумя объемами этанола и сушили в вакуумном эксикаторе. Подготовку белков к электрофорезу, электрофорез в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия и определение молекулярных весов проводили по методике [5] с той лишь разницей, что использовали 5%-ные гели. Значения молекулярных весов белков-свидетелей — лизоцима (14 300), химотрипсиногена (25 700), яичного альбумина (43 000) и бычьего сывороточного альбумина (68 000) — взяты из той же работы. Сканирование гелей проводили на денситометре «Chromoscan» (Англия).

Авторы выражают глубокую благодарность А. С. Спирину за постоянное внимание к работе и обсуждение результатов и Н. В. Белициной за ценные замечания при подготовке рукописи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Преображенский А. А., Елизаров С. М. (1975) *Биоорг. химия*, **1**, 1633—1638.
2. Степанов А. С., Воронина А. С., Овчинников Л. П., Спирин А. С. (1972) *Биохимия*, **37**, 3—9.
3. Овчинников Л. П., Воронина А. С., Степанов А. С., Белицина Н. В., Спирин А. С. (1968) *Молекулярн. биология*, **2**, 752—763.
4. Stepanov A. S., Voronina A. S., Ovchinnikov L. P., Spirin A. S. (1974) *FEBS Lett.*, **18**, 13—18.
5. Weber K., Osborn M. (1969) *J. Biol. Chem.*, **244**, 4406—4412.
6. Preobrazhensky A. A., Ovchinnikov L. P. (1974) *FEBS Lett.*, **41**, 233—237.
7. Blanchard J. M., Brissac C., Jeanteur Ph. (1974) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **71**, 1882—1886.
8. Schweiger A., Mazur G. (1974) *FEBS Lett.*, **46**, 255—259.
9. Inners L. D., Felsenfeld G. (1970) *J. Mol. Biol.*, **50**, 373—389.
10. Белицина Н. В., Гиринович А. С., Спирин А. С. (1973) *Докл. АН СССР*, **210**, 224—227.

Поступила в редакцию
11.VI.1975

THE ISOLATION OF RNA-BINDING PROTEINS FROM BOVINE BRAIN EXTRACT BY THE AFFINITY CHROMATOGRAPHY ON IMMOBILIZED POLY(U)

PREOBRAZHENSKY A. A., ELIZAROV S. M., BARULINA N. A.

*A. N. Bach Institute of Biochemistry, Academy of Sciences
of the USSR, Moscow; Department of Molecular Biology,
M. V. Lomonosov State University, Moscow*

A method for affinity chromatography of RNA-binding proteins on poly(U) covalently coupled to CM-cellulose has been developed. The procedure was shown to result in no loss of any RNA-binding protein fraction necessary for informosome-like particles formation. The isolated proteins were separated into several fractions on ion exchange resins. The molecular weights of polypeptide chains in the RNA-binding protein fractions were determined.