



ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

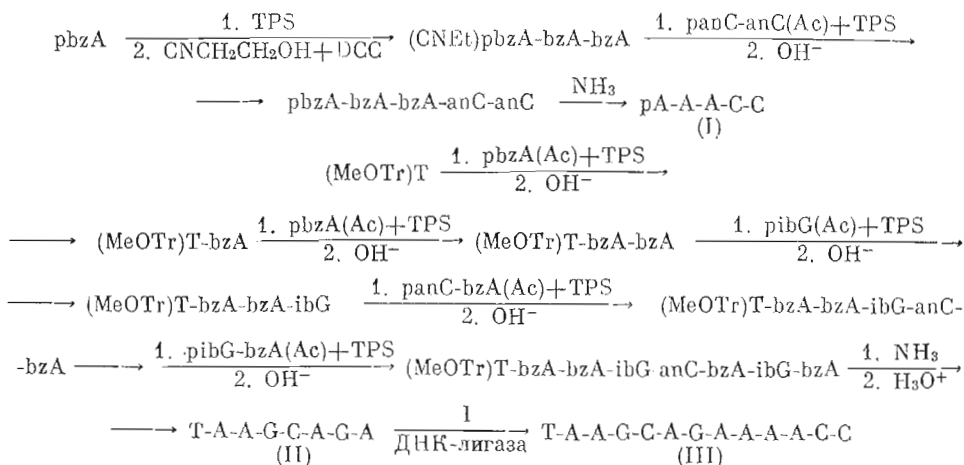
УДК 457.963.32:542.953.2

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ СПИВКА ДВУХ ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕОТИДОВ НА ПРИРОДНОЙ ДНК-МАТРИЦЕ — СИНТЕЗ ТРИДЕКАНУКЛЕОТИДА, КОМПЛЕМЕНТАРНОГО УЧАСТКУ СВЯЗЫВАНИЯ ДНК ФАГА ФХ174 С РИБОСОМАМИ *E. COLI*

Берлин Ю. А., Долганов Г. М., Казан М. З.,
Колосов М. Н., Коробко В. Г.,
Полякова И. А., Честухин А. В., Шемякин М. Ф.

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

Ранее было показано, что одноцепочечная ДНК фага ϕ X174 образует с рибосомами *E. coli* специфический комплекс, в котором определенный участок ДНК защищен от действия нуклеаз и благодаря этому может быть избирательно вычленен из генома [1, 2]. Была установлена первичная структура этого фрагмента, причем оказалось, что его 3'-концевой сегмент представляет собой начало структурной части гена G, кодирующего белок оболочки фага [1, 3, 4]. В настоящем сообщении описывается синтез тридекадезоксинуклеотида (III), который комплементарен 5'-концевой части этого фрагмента и может быть использован в качестве праймера для синтеза с помощью ДНК-полимеразы смежного участка (—)-цепи ДНК ϕ X174 и выяснения таким путем структуры участка инициации транскрипции этого гена.



Нами были синтезированы химическим путем октануклеотид (II) и пентануклеотид (I) (см. схему; для краткости префикс d всюду опущен).



Двухмерное разделение частичного гидролизата тридекануклеотида (III) (В — ксиленианол FF). Первое направление — электрофорез, второе — гомохроматография; а — радиоавтограмма, б — схема

Эти нуклеотиды после введения 5'-концевой метки с помощью Т4 полинуклеотидкиназы и $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ были отождествлены с (+)-цепью ДНК ϕX174 и затем ковалентно сшиты при помощи Т4 ДНК-лигазы с образованием тридекануклеотида (III). Ход сшивки контролировали по повышению доли $[\text{}^{32}\text{P}]$ фосфата, устойчивого к действию щелочной фосфатазы *E. coli*, а также с помощью гомохроматографии. Продукт реакции был выделен электрофорезом в полиакриламидном геле и хроматографией на сефадексе G-50. Полный гидролиз полученного вещества с помощью фосфодиэстеразы змеиного яда привел к $^{32}\text{P}\text{T}$ и $^{32}\text{P}\text{A}$, а гидролиз фосфодиэстеразой селезенки (после 5'-дефосфорилирования) — к A^{32}P . В результате частичного гидролиза тридекануклеотида (III) фосфодиэстеразой змеиного яда и последующего разделения смеси олигомеров электрофорезом на ацетилцеллюлозе и гомохроматографией во взаимно перпендикулярных направлениях была получена нуклеотидная карта (рисунок), которая, согласно известным закономерностям [5], подтверждает структуру синтезированного тридекануклеотида (III).

ЛИТЕРАТУРА

1. Robertson H. D., Barrell B. G., Weith H. L., Donelson J. E. (1973) *Nature New Biol.*, 241, 38—40.
2. Robertson H. D. (1975) *J. Mol. Biol.*, 92, 363—375.
3. Barrell B. G., Weith H. L., Donelson J. E., Robertson H. D. (1975) *J. Mol. Biol.*, 92, 377—393.
4. Donelson J. E., Barrell B. G., Weith H. L., Kössel H., Schott H. (1975) *Eur. J. Biochem.*, 58, 383—395.
5. F. Sanger (1973) in *Virus Research* (Fox C. F., Robinson W. S., eds.), pp. 573—598, Acad. Press, N. Y.—London.

Поступила в редакцию 10.III.1976