



ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 577.152.261*5'1 : 577.212.3

© 1994 С. М. Зеленин, Н. П. Мертвецов

НУКЛЕОТИДНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ГЕНА
ТИРОЗИНАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ ЧЕЛОВЕКА*Новосибирский институт биоорганической химии СО РАН,
Новосибирск*

Ген тирозинаминотрансферазы (ТАТ; *L*-тирозин : 2-оксоглутарат—амино-трансфераза, КФ 2.6.1.5) является удобной моделью для изучения гормональной генетической индукции у млекопитающих [1]. Для детального исследования молекулярных механизмов влияния стероидных гормонов на процесс транскрипции эукариотических генов необходимо знание первичной структуры этих генов. Ранее нами было проведено клонирование генов ТАТ крысы [2] и человека [3], частично определена нуклеотидная последовательность гена ТАТ крысы [4, 5]. Цель данной работы — установление первичной структуры гена ТАТ человека.

Наличие в литературе данных об экзон-интронной организации гена ТАТ человека и последовательности нуклеотидов в мРНК ТАТ человека [6] позволило использовать технику полимеразной цепной реакции для получения фрагментов гена, что существенно упростило подготовку материала для секвенирования. На рис. 1 приведена схема расположения олигонуклеотидов, выбранных для амплификации фрагментов гена ТАТ человека. Структура олигонуклеотидов приведена в таблице.

Амплификацию геномной ДНК проводили в соответствии с прописью: «Набор „Амплификация“» производства Института прикладной энзимологии «Fermentas» (Литва). В результате был получен набор фрагментов гена ТАТ человека, достаточный для реконструкции полной нуклеотидной последовательности гена. Эти фрагменты были секвенированы как непосредственно по методу Максама — Гилберта [7], так и после клонирования в бактериофаге М13 по методу Сенгера [8]. В результате были получены нуклеотидные последовательности, содержащие в себе кроме последовательности интронов части прилегающих экзонов гена ТАТ. Перекрывание с экзонами позволило нам составить полную непрерывную нуклеотидную последовательность гена ТАТ человека длиной 10989 п. о. (рис. 2).

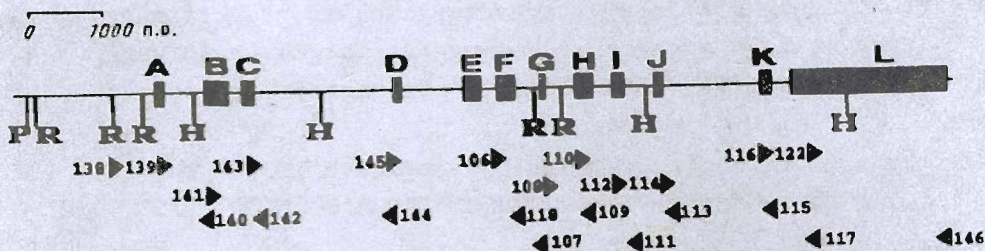


Рис. 1. Схема гена ТАТ человека [6]: экзон-интронная структура (обозначения экзонов от А до L приведены в верхней строке), рестриктивная карта (обозначение рестриктаз в нижней строке: P — *Pst* I, H — *Hind* III, R — *EcoR* I) [6] и расположение олигонуклеотидов для амплификации фрагментов гена. Обозначение олигонуклеотидов на схеме и их нуклеотидная последовательность приведены в таблице

Прямые праймеры: 5' - 3'		Обратные праймеры: 3' - 5'	
106	CCCCTGTGGG TCAGTGTTC A GCA	107	CTGATGAGAT STATGGAGAC ATGGTG
108	GCACGGCAGT GTGTCCCAT CTTA	109	TATGAACCAC TGGCCACCCT CAGC
110	AGGTGTGGGT GGATCCTCAT TCAT	111	GCTTTTCAGA GCTCCCTGGA CAAT
112	TGTCCGACCC CGGAGAGTT TTAC	113	GGCAGCCAAC GCCCCATAAC A
114	GTCCGCCCTT CTGGGGCTAT GTA	115	GCTCCGTGAA CTCCACATCG TTCT
116	GTGGAGTCA CGGAGCGGT AGTT	117	GCTGCACGCC TCCAGCATCA TCA
122	GCAGTGGGG GAGTACCCGA ATTTT	118	TTCAGAAGAT TCTGGCAGGT ACGTCC
138	CTGCACAGGT TTCAGCTGCC TT	140	GCSTTTGCTG CTCATCTGAA TC
139	CTTGGAGGCT GCTTTCTCCT TT	142	GATGGATGGG GCATAGCCAT TA
141	TTCGCTAGTG ATGGACCCAT AC	144	GCCTCAGGAC AGTGGTAATA AG
143	GGGACCCTAC TGTGTTTGG A A	146	CACAGAAGAG CCATACTGG TGAAA
145	TTCCSTATCCA GTCCGGAGGA GATTG		

Список олигонуклеотидов, выбранных для амплификации гена ТАТ человека в ориентации относительно гена (см. рис. 1)

taaaactgccagggtttcagctgccttggacaccctgtgcttttcagctatttgttgaat
ggaacttaatgcccaatttgttctgattggagcaaaactttgtggactgacaaggatgg
gcgtccaagtgttaggaagttaaaaaaaaaattgtgccaaacaagggtgtagagcacgac
ctatctgtgtttgaaatctatgaaattatgtatctatgcaccatataatgtaatgata
tctctgaatgagggaaagagcctgaccattaccaccctctaccctgggagtgagaatg
aagtgtacaggagcagggtgcaaggaagaatgctcacttctactttatatatttctgta
ctgttaaaatttaactggctgttttgtaaaaaaaathtaataaaagctatcaactgtaa
ccagaagtatttctgacagtagatgttctcaaccatctaccaagtgccagaaagag
ttaacacagagaattccagatgtttgaagtgagaacaaatctctgctttgaggggtggga
gggtgggcttgggatgagaggcaatgacgggggagaggaggaaagaagctgaggggagag
ctggctgctagttgtcattccaaccaatggcatgaaagttcaagcccaacgcccattt

Экзон А

gtggagacttttcaggagttaggatttgcactctgagttcATTGCCCTGTAACTGTCA
AAGAAGAGCAAGGGAGCTTTCGGGGTTGGCTTCTTGGAGGCTGCTTCTCCTTTACTTG

Интрон 1

GAAGGtaaaaattttaagtttaagttgatcaggyagtggtgactgattgagytgtaat
ttttttctttttgggtgattgatttctttttccagctagggtgtaacatgcttatggg
ataaggttttacttttactaacaatgatatttcatggaaacttetaacaagatggagtg
gttcttctctggctctctgcagatgacaagaagcattaggtagattttcttggatagget
cgcatggaaaggaaggagaacctatgctttgactgatgacaattttcatcttattct
tcttggtttccatagagcatggttaagccttgacaggaattgcagatgcgtgtagcaa
atcctacttaagtagaatgggttcttggctttatttccatctcagtaaaaactcttaaa
actcecccatcctatagtaagctactttacaacagaaagtagaaaaaaaaataaagaga
gagtttggaaagacacttttagtgaagtcaccaatgttttaggtccaaatgtagctct
ctgtcecccccagcctatgttatcaacatcacagggaaacttcttcccctcgcacttegc

Экзон В

M D P Y M I Q M S S K G N L P S
GCTTCGCTAGTGATGGACCCATACATGATTCAGATGAGCAGCAAAGGCAACCTCCCCTCA

I L D V H V N V G G R S S V P G K M K G
ATTCTGGACGTGCATGTCAACGTTGGTGGGAGAAGCTCTGTGCCGGGAAAAATGAAAGG

R K A R W S V R p S D M A K K T F N P
CAGAAAGGCCAGGTGGTCTGTGAGGCCCTCAGACATGGCCAAGAAAACTTTCAACCCCA
I R A I V D N M K V K P N P N K T M I S
TCCGAGCCATTGTGGACAACATGAAGGTGAAACCAAATCCAAACAAAACCATGATTCC

L S I Интрон 2

CTGTCCATTGgtgagttggggacactactgaggggctgtcattgtcctctctactctc
atgttcacaggctgggttgagaagatggcagttgggggtgagctgagtaactgaacatg

Экзон С

G D P T V

ggagaataacctcttggctctcttttgtgttttctctccataaaaaagGGGACCCTACTGT
F G N L P T D P E V T Q A M K D A L D
GTTTGGAAACCTGCCTACAGACCCTGAAGTTACCCAGGCAATGAAAGATGCCCTGGACT

S G K Y N G Y A P S I ИНТРОН 3

CGGGCAAATATAATGGCTATGCCCATCCATCGGtaagctcctcctgagactccataacc
tgggtgactgccaaaatcttttagtgctctttataacaggactaaatgtctagcaatcctctt
cacttctctgatgcacaattcctaaggagaggctaagattacatggtcctttggatttg
ggaaccgggtctcgggatgcttaaatacaaggcatcaaggccaactctcttcttggtt
ttctttgacatatgggcaactccctcttaggctcccaaacatactttatgtcaagtaaa
gctctatactatactactaattcttaactgaaggccttgagctcggcaggagctttgt
gtttgctgagcctctaggctcctaaatggatttacttattgctctgtgtatatagetcct
ttgcttcatttctgcttctctatgtattgaaggccttattttcattatggctctgagca
cattgaaatgcaattggtaccgtttatgactaacgggtttaacaacaacaataaaca
cacccaagaacaacaaaaaatgggctgtcaaacgaaggatagaaggttgtttctgata
gattgaaattactccttttttaggtttctctccatctattaaaaatctcaccctgaata
ttttggtaaagtacatgattccttgactttcagatattgaatcatttttttctctatgt
gtacatagaaacacacttcttaatgcagaataaaacccagtttcatgataaaatcaaa
ttttaaaaacactttaagagttatctcggggacttcgtggtttttcggttgattactt
acattttataaagtttctatcagacaaaaataaaagcaaaaatcaagaccaaaagttgtta
taaaaaaagtttctaatgactttaacatccagatattaggaaactgatttaacctgaaa
aanmnaaccaagctctctatttgacaaatgttcaaaggttctgaavattttcatttcaa
aggagatacagggtgttaatatatgtctaaaaaagtgctctctctcattagtaattagg
aagtgctgatttgtataactttgagacacccatctatacctattaaattagtaaacatt
atgaaatagtgccctctagccttgctaaagttgtctttttgaaacataaaatttgcaaaata
ttatgatgggcatgaaactgctgatacttcaagctgggttcgaaatcgataagccttgta
agccaacatttggaatatgttacaataaaataattgaaataaaaaattgtacaataata
ctgataagaatatatacaataaaaaacttaaaatggaccacatgaattgaaatgcac
tgattacaactctcttt
ttgcccaggcgggagtgagtgatgatcctggctcaccgcaacctccgctcccgggt
tcaagtgattctctgtctcagcctcttgagtagcteggattacaggcacgcncacaa
tgcccagctaatttttgtatttttagtagagatgagattctctccatggtggctgagctg
gtctcaatctcccagcctcagggtgatccaccaccttmcctcccaaagctctgggatt
acaggcataaacaccgacctggggattacaactcttataaaaaatcagctccttaaaaa
gatttgggaataatagaatccttgatttacacagaataaaaataaancacagaaatca
agatgggtgcagagtatttggggagctctctcttggttatcatttatacattcgtgcttat
actaaaattgtaaaacataaaagtgttaagtgaatctcttttatcccaatggctgagag
ctgaaactaaaatagaatgccctctgagcaggggagagggcagcctgaccagatgctgggc
ctccagggcatagctgtcagttgagggatgaaaacttcatctctctgcccagcagctg
gctcacccttgtaateccagcactttcaggaggctgaggtgggaggagccctgagacc
caggagtgtgaaatcagcctgggcaacagaggaggattctgtctctacaaaaaaacaa
acaaaaacaaaaacaaaaacaaaaacaaaaacaaaaacaaaaaattcaaaaattagct
gaatgtgggggagcagcactatagctccagctactcaggaggctaagggtgggaggatcc
cttgagcccaggaatttgaggccgagctgagctatggctgtgtcactgcactccaagtc
cgggtgacagagtgagacacagctcttaaaaacaaaaaagctccactttccactttt

ЭКЗОН D

G F L S S R E E I A S Y Y H C P E
 tctttcagGCTTCCTATCCAGTCGGGAGGAGATTGCTTCTTATTACCACTGTCCTGAGG
 A P L E A K ИНТРОН 4
 CACCCCTAGAAGCTAAGgtgggccttatacaagacaccagctctgaagcaatttagggc
 aaactatecctttttacttgtttctgttccacaagaagtacgggtgtcagagggggaaa
 agctgagaacaatttcccttttagcaattagaagacttctcatatagttggggctactaa
 tcagtgattatagttaatgtcattacagtgatgataatgaccgatcccatatacaacttaat
 gtgggtgtctgtctcaaggaggccgaaaggatcccagagagcacctatatttgattgtct
 gtaaaagatcatttgagaacaactcataaacactaagaaattattttaaaaaattttac
 caataggatctttcttttttaaaaaaattgtagcttttctcatttactgttaaggctcat
 ttagagagaaagatagaagtagaccaggacatactgaattgatgcagtgccaagtttaaat
 gatgtctctcctctatagctctactgtgtgggtcagcattttctaacataatgtgtgt
 ctgtcacctgtatgtcagcgaagagccaggetcaaatctctggccaaaagtaataaa
 taaccaagcgaaaaaggccaaggccagcatgctctctcatggaagtctgctgagtcac
 agccaacctatccttttttaagtgatttaagtggccaacatttcaacaatagttatcaa
 catatataaatttctttttggttttggcttagtacatttctactacttacaacttgta
 aaggaagttcacgattgctcccaactcaccacctgacaacttcttttctctctgttgc

ЭКЗОН E

D V I L T S
 gttggaaccctaatgaaattaaccttttatttccctcacagGACGTCATTCTGACAAG
 G C S Q A I D L C L A V L A N P G Q N
 TGGCTGCAGCCAAGCTATTGACCTTTGTTTAGCTGTGTTGGCCAACCCAGGGCAGAACA
 I L V P R P G F S L Y K T L A E S M G I
 TCCTGGTTCCAAGACCTGGTTTCTCTCTCTACAAGACTCTGGCTGAGTCTATGGGAATT
 E V K L Y N L L ИНТРОН 5
 GAGGTCAAACCTCTACAATTTGTTGgtaaatgactttttaatcttagactcaaatgctca
 gttactaacctgtaaaaaatatatgaacattacttcagcagaggaaggctcacaagtgg
 tggttgaagccagagacagactttattgcttacattggacccttgagataagtgaggat

ЭКЗОН F

P E
 tccccataaatgtttcagaatcatcttagtctcctctctctccagCCAGAGA
 K S W E I D L K Q L E Y L I D E K T A C
 AATCTTGGGAAATTGACCTGAAACAACCTGGAATATCTAATTGATGAAAAGACAGCTTGT
 L I V N N P S N P C G S V F S K R H L Q
 CTCATTGTCAATAATCCATCAAACCCCTGTGGGTCAGTGTTCAGCAAACGTCATCTTCA
 K I L A ИНТРОН 6

GAAGATTCTGGCAGgtacgtccagcagaacttcacagaggaagaggtggggacagaatcc
 ttcagctgtttgtgtgaaatgacaaaaaccagtcattccctaagtccaagcctgggggtg
 gaggtggggagctccactgatgtctctcatcaatactgtgccrtaggagtggtaggcct
 ggccctaaaagagggaaaaagaagaatacttgtctctctcatcactcccaggagaaaaaga

artagtacttgccctcttcatcactcccatcacgttgaagatagggctctgaaatatctag
ttactttaatgggtgaattcaggetctgcactctggaagagtatgttaagaatttacagt
tcttaaataggaagacaaaacacacaaacatgaaatgcaaatcacactttgcttgtgct
ttttgtctttctctttaagaattgtaacttcttaataattacgggatagggaaattacat
gatattatgtgactattacatgataaagcaattcacattaaaactgatttcagcatgtt

Экзон G

V A A R Q C V P I L A D E I Y G D

ttattttcagTGGCTGCACGGCAGTGTGTCCCCATCTTAGCTGATGAGATCTATGGAGA
M Интрон 7

CATGgtgagtcgtgagctcttgatcaggatataactacagtaatctcaaattatttat
gggaactttagaagtggaataatcagaacaactcctaactcgtttcattacagcaaatca
gcatccctgcacttttttacaatatatagaccacaaactccttagccagttttctgaaa
cccaaagaactttggaaatccaagattccttggaaattcatttggttacaaaacctgatt
gacctgatattttagatattttattttccacttgtgatctatataatttgttaagagt
gtggggaaaatggcagaaatgttaataattcttgattaggggtactatcctagacagctc
tgggagtgttacataacgtatggtaagtgtgtctacatggcctttctgaagcccaacca
tttgcattatgaaaatacctggccccaggaattcagataagggattgtggacttata
ttttaaactctgtagctcctatagacagtaattcatagagccagcttcatggagttgta
aatattactgggctagggctcagtttctcatttttaggcttcttttaatccagtcacagac
accaaattaaatgtcttttgtgtagtcccttcaaagcctcttgcattccagtcgatct
tcagggtagggatgatccattaatccaaggacc^ogtccctagtgtatagaaggaaatgg
gtgggagccacgggatctgggattgcagtgagaagtagacaagaaaacaccataanaa

Экзон H

V F S D C K Y E P L A T L S T

gtscctcttctcagGTGTTTTTCGGATTGCAAAATATGAACCACTGGCCACCCTCAGCACCC
D V P I L S C G G L A K R W L V P G W R
GATGTCCCCATCCTGTCTGTGGAGGGCTGGCCAAGCGCTGGCTGGTTCCTGGCTGGAG
L G W I L I H D R R D I F G N E Интрон 8

GTTGGCTGGATCCTCATTCATGACCGAAGAGACATTTTTGGCAATGAGgtgataatat
ggtgaaagagtatgtgtaatttagggtatataattatctcatgagcacagtggggacaa
gggaggcttttttcttttctttctcttctcagtcagtcagcagcatgtgtgtggcagagct
gggctacgaaccagagggtctgatctaaagaatgccactagacaccatcactttccaag
attaaaaacctgatagaaaggtcagaacaagaaactcctaagacagagatgcttaagaaa

Экзон I

I R D G L V K L

agctaaacaacatgtttcttgtgggtgtcttttagATCCGAGATGGGCTGGTGAAGCTG
S Q R I L G P C T I V Q G A L K S I L C
AGTCAGGCATTTTTGGGACCCTGTACCATTGTCCAGGGAGCTCTGAAAAGCATCCTATG
R T P G E F Y H N T L S F L K Интрон 9
TCGCACCCCGGAGAGTTTTACCACAACACTCTGAGCTTCCTCAAGgtaaggcagctc
ctgcctccactttgggagtttgggagtcagagaatgccgcccgtggaattaggaataa

ttggttctcctttctggagccatgttccaatattaggagacggcatcgggtgtaagcacc
cacacacacggtttctcacttccggccatttctctctgcccctgggtgaaaagcttcaagta
atagagctttttcttttctcactccttatgccagaacatcacacctacgttcccactett
caatgaggggdctatttttaatgacttggctttttcttttacttaaattttgatccttga

ӘКЗОН J

S N A D L C Y G A L A A
tttctccttgccctettctttagtTCCAATGCTGATCTCTGTTATGGGGCGTTGGCTGCC
I P G L R P V R P S G A M Y L M ИҢТРОН 10
ATCCCTGGACTCCGGCCAGTCCGCCCTTCTGGGGCTATGTACCTCATGgtgagtatgtg
gggtggcaggcacttaggtcaatgcatgttgtgtaaggcaaggcagtcattcagcagaatt
gccacaggcagtcacgcarggtacaaagacaaccagctggcctcctaagccaagcagtt
taggagttgtcttattctgaattgtcccactgaggtaatttagcctctatcagttctca
taaaactctttaatgacttaattaggcagggcatgggtggctcacgcctgcaatgcagc
actttgggaggccaagtgaggacggatcattagcgcaggagttagagaccagcctgggca
acatgggtgaaactctattgtctctacaagaaataaaaaaaaaatgagctggggcgtgggtgg
cacactcctgtagtcttagctccttgggaggctgagatggaagaatgacttgagccttg
gaggttgaggctgtagtgagccataatcgtgccactgtactccccgtctgggagacagag
tgagacccccatccgaaaaagaaaaaaaaaaaaaaaaagatttaattttcagtacagagaa
tcattttatataatgtagatacaggggaagatttaaacacaaataagaggcttttcatac
cattgtaattctcaactggagtgatactgggttcttaaggggtatctgggaaatgtatggga
atthttgtttgtttcagaatgactaggggctgccatthttgtgggtcagggatgttaaat
atcctgcaaggggtgggctagctctcatgccataaagagttgccctggccctaatgccagt
agtgtctcttttgagacatactagcattctatthtcagctttttatthtcatcagcatcagg
gaaggaaactctttaatatttataataaaaaatatactctgtcttccctgagaaaaatc
cataaatatttagccctcttattthtcatcagtgatcagtagcacagttccaagatacttht
aaagtagccctaccttaatttctggcacaggaaattggcctgttctcccctctcttga

ӘКЗОН K

V G I E M E H F P E
taagttggcctctcccctcctggttgggtatagGTTGGAATTGAGATGGAACATTTCCCAGA
F E N D V E F T E R L V A E Q S V H C
ATTTGAGAACGATGTGGAGTTCACGGAGCGGTTAGTTGCTGAGCAGTCTGTCCACTGCC
L P A T ИҢТРОН 11
TCCCAGCAACGgtgggtgctgtgtcccctcaggacattctcaacagtttctagageccc
agaagcaagttctgagctgggttttttagcctgatcttttctctccaacaaaatgtcttc
tcatttgataagattcaaaactgatgtgtctcatggatcctatthtaaaatttgetctec
ccccatcataatcccatccatactgggaagaaaagttgtaaacaaaacgttctagggtga
gaggaaattgatcctgatcccacaagtcattthtaagatgaatgaaactcagttggctgac
ttagcateccagtcattgggagctgaaatgaaactgatggcccctgatgaaatgggtaccactt
cttgtggatcagggctctgaccatthtaggggtgtccagttaccagactcaattgctctg

6. Rettenmeier R., Natt E., Zentgraf H., Scherer G.//Nucl. Acids Res. 1990. V. 18. № 13. P. 3853—3861.
7. Maxam A. M., Gilbert W.//Meth. Enzymol. 1980. V. 65. P. 499—560.
8. Sanger F., Nicklen S., Coulson A. R.//Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1977. V. 74. № 12. P. 5463—5467.
9. Grange T., Guenet C., Dietrich C. 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
10.VI.1993
После доработки
23.VIII.1993

S. M. Zelenin, N. P. Mertvetsov

**NUCLEOTIDE SEQUENCE OF HUMAN TYROSINE
AMINOTRANSFERASE GENE**

*Novosibirsk Institute of Bioorganic Chemistry, Siberian Division, Russian
Academy of Sciences, Novosibirsk*

Introns of human tyrosine aminotransferase (TAT) gene were sequenced. Combined with the literature data about the exon-introne structure of the gene and the sequence of the TAT mRNA, the obtained nucleotide sequences yielded on uninterrupted segment 10989 b. p. long of the human TAT gene.