



УДК 547.963.32

УФ-ИНДУЦИРОВАННОЕ ОБРАЗОВАНИЕ РНК-БЕЛКОВЫХ СШИВОК  
В 30S-СУБЧАСТИЦАХ РИБОСОМ *E. COLI**Турчинский М. Ф., Броуде Н. Е., Кусова К. С.,  
Абдурашидова Г. Г., Будовский Э. И.**Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина  
Академии наук СССР, Москва;**Отдел биоорганической химии Академии наук УзССР*

Изучено УФ-индуцированное образование ковалентных сшивок между 16S-РНК и белками в составе 30S-субчастицы рибосом *E. coli*. Показано, что УФ-облучение ( $5 \cdot 10^6$  кв./част.) приводит к связыванию 16S-РНК с белками, не вызывая при этом агрегации или разворачивания 30S-субчастиц. Использование  $^{125}\text{I}$ -меченых 30S-субчастиц позволило идентифицировать рибосомальные белки, ковалентно связывающиеся с 16S-РНК. К числу этих белков относятся в первую очередь белок S7, а также S3, S4, S (9, 11) и S18.

В последние годы сделаны существенные шаги в изучении строения рибосом *E. coli*. Важным аспектом этой проблемы является исследование закономерностей РНК-белковых взаимодействий в рибосомах.

Высказано мнение, что практически все белки имеют места контактов с рибосомальной РНК [1]. Однако если ряд белков можно выделить из рибосомальных субчастиц в виде специфических комплексов с 16S-РНК, что является прямым доказательством наличия непосредственных контактов с РНК [2], то для остальных белков существование таких контактов нельзя показать с помощью традиционных подходов. Для фиксации слабых взаимодействий белков с нуклеиновыми кислотами в нуклеопротеидах удобен метод индуцированного УФ-светом образования ковалентных связей между нуклеиновой кислотой и белками [3—7].

Этот метод был применен для изучения РНК-белковых взаимодействий в 30S- и 50S-субчастицах рибосом *E. coli* [8—10]. Так, в работах Горелика [8, 9] было показано, что при больших дозах облучения в 30S- и 50S-субчастицах практически все белки могут ковалентно связаться с РНК. Выводы о сшивке белков с РНК были сделаны автором на основании анализа фракции несвязавшихся белков. Другой подход к идентификации ковалентно связанных компонентов был предложен в работе Меллера и Бримакомба [10], которые анализировали фракцию пришитых белков и показали, что в составе 30S-субчастицы белок S7 ковалентно связывается с 16S-РНК [10]. Остальные пришитые белки авторами не исследовались.

Целью нашей работы была идентификация белков, входящих в состав 30S-субчастицы и имеющих непосредственные контакты с 16S-РНК, с помощью метода УФ-индуцированных сшивок. Для этого были использованы

Сокращения: ДДС-Na — додецилсульфат натрия, РНП — рибонуклеопротеид.

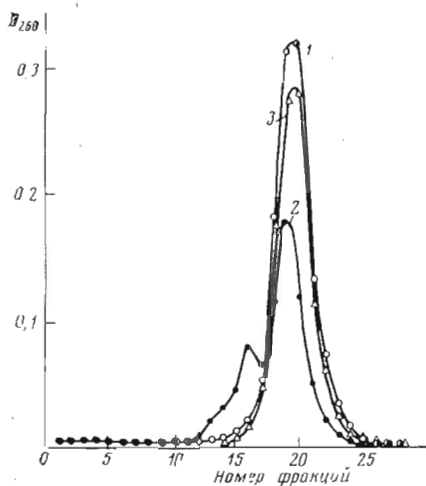


Рис. 1

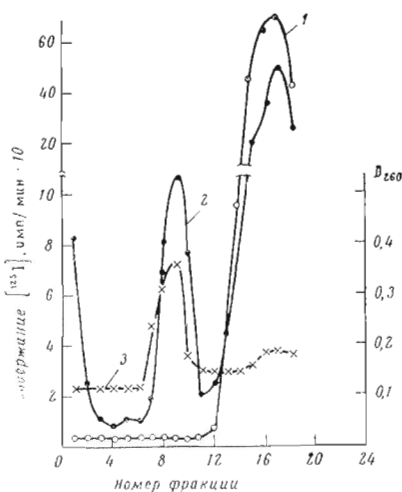


Рис. 2

Рис. 1. Результаты центрифугирования 30S-субчастиц, облученных в различных буферах, в градиенте концентрации сахарозы (см. «Экспер. часть»). 1 — контроль — необлученные 30S-субчастицы. Состав буферного раствора: 300 мМ KCl, 20 мМ MgCl<sub>2</sub>, 30 мМ Трис-НСl (рН 7,6); 2 — 30S-субчастицы, облученные 1 ч ( $5 \cdot 10^5$  кв./част.) в буфере, содержащем 100 мМ KCl, 20 мМ MgCl<sub>2</sub>, 30 мМ Трис-НСl (рН 7,6); 3 — 30S-субчастицы, облученные 1 ч ( $5 \cdot 10^5$  кв./част.) в буфере, содержащем 100 мМ KCl, 20 мМ MgCl<sub>2</sub>, 30 мМ Трис-НСl (рН 7,6), 6 мМ меркаптоэтанол или 300 мМ KCl, 20 мМ MgCl<sub>2</sub>, 30 мМ Трис-НСl (рН 7,6)

Рис. 2. Кривые распределения компонентов 30S-субчастиц до и после облучения при центрифугировании в градиенте концентрации сахарозы: 1 — необлученные 30S-субчастицы (имп/мин), 2 — облученные 1 ч ( $5 \cdot 10^5$  кв./част., имп/мин), 3 — облученные 1 ч ( $5 \cdot 10^5$  кв./част.,  $D_{260}$ )

30S-субчастицы, меченные по белку [<sup>125</sup>I]. Пришившиеся белки анализировали после исчерпывающего нуклеазного гидролиза РНП-частиц, выделенных из облученных 30S-субчастиц.

Мы показали, что при дозах  $5 \cdot 10^5$  кв./част. УФ-облучение вызывает специфическое связывание ряда рибосомальных белков с 16S-РНК и в то же время не вызывает сильных изменений в структуре 30S-субчастицы.

*Влияние УФ-облучения на свойства 30S-субчастиц рибосом E. coli.* Изучение влияния УФ-облучения на свойства 30S-субчастиц проводили при дозе  $5 \cdot 10^5$  кв./част. \* (60 мин облучения). Как было показано нами (см. ниже), при этой дозе облучения уже достигается значительная степень ковалентного связывания белков с РНК.

Облучение в буфере, содержащем 100 мМ KCl, приводит к агрегации 30S-субчастиц (рис. 1). Повышение концентрации KCl до 300 мМ или добавление меркаптоэтанола предотвращает агрегацию. Поэтому все результаты, приведенные ниже, получены при облучении 30S-субчастиц в присутствии 300 мМ KCl.

При облучении суспензии 30S-субчастиц происходит падение оптической плотности при 260 нм на 4—6%. Это обусловлено, по-видимому, фотоиндуцированными превращениями компонентов РНК.

Конформационные изменения 30S-субчастиц, возможные в процессе облучения, исследовали методом геле-электрофореза в полиакриламид-агарозном геле по методу Дальберга и др. [11]. Нами показано, что положение полос облученных и необлученных 30S-субчастиц совпадает (данные не приведены). Это свидетельствует о том, что в использованных ус-

\* Приведенные в работе значения доз поглощенной энергии являются усредненными, так как облучение осуществляли без перемешивания.

ловиях облучения не происходит разворачивания 30S-субчастиц. Этот вывод подтверждается также неизменностью коэффициента седиментации 30S-субчастиц до и после облучения.

Как видно из таблицы, облучение 30S-субчастиц не сказывается на их способности связывать фен-тРНК в присутствии poly(U). Таким образом, при облучении 30S-субчастиц дозами до  $5 \cdot 10^5$  кв./част. не происходит заметных изменений ни функциональной активности 30S-субчастиц, ни их конформации.

*Свойства меченных [ $^{125}$ I] 30S-субчастиц.* Скорость седиментации иодированных 30S-субчастиц в градиенте концентрации сахарозы и их электрофоретическая подвижность в полиакриламид-агарозном геле не отличаются от соответствующих характеристик исходных (немеченых) субчастиц (данные не приведены). После диссоциации в растворе ДДС-Na с EDTA иодированных необлученных субчастиц и центрифугирования в градиенте концентрации сахарозы практически вся метка обнаруживается в белковых фракциях, а радиоактивность во фракциях РНК не превышает фона (рис. 2, 1). Следовательно, при иодировании 30S-субчастиц метка включается практически только в рибосомальные белки.

*Влияние облучения на иодированные 30S-субчастицы.* Облучение иодированных 30S-субчастиц приводит к появлению [ $^{125}$ I] во фракциях, содержащих РНК, что обнаруживается после диссоциации таких частиц в растворе EDTA и ДДС-Na и центрифугирования в градиенте концентрации сахарозы (рис. 2). Относительное содержание иода во фракциях РНК возрастает по мере увеличения дозы облучения (рис. 3) и достигает 25—28% общего количества иода во всех фракциях при дозах  $10^6$  кв./част. Хотя при такой дозе накопление метки в РНК-содержащих фракциях не достигает насыщения, дальнейшее облучение нежелательно, так как вызывает заметную деградацию РНК. Следует отметить, что при облучении иодированных 30S-субчастиц происходит УФ-индуцированное отщепление иода (до 40% общей метки, введенной в белок) [12].

Специальными опытами было показано, однако, что отщепившийся иод не перераспределяется между белками [12], а также не включается в РНК. Последний вывод был сделан на основании данных по облучению меченых 30S-субчастиц в растворе, содержащем EDTA. При этом количество метки, определенной во фракции РНК после диссоциации 30S-субчастиц и разделения компонентов центрифугированием в градиенте концентрации сахарозы, не превышало 2% над уровнем фона (рис. 3).

Таким образом, появление метки в РНК-содержащих фракциях при облучении 30S-субчастиц в растворах, содержащих 20 мМ MgCl<sub>2</sub>, свиде-

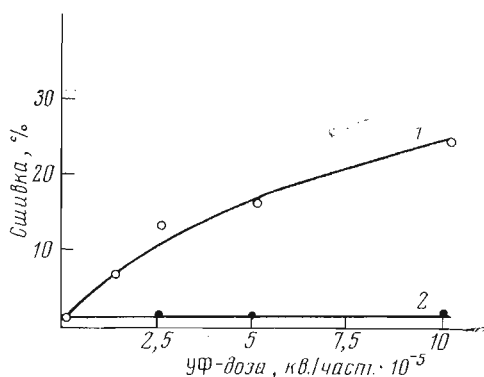


Рис. 3. Изменение количества белка, связанного с 16S-РНК, в зависимости от дозы облучения и состава буферного раствора. Облучение в буфере, содержащем: 1 — 300 мМ KCl, 20 мМ MgCl<sub>2</sub>, 30 мМ Трис-HCl (рН 7,6), 2 — 300 мМ KCl, 20 мМ EDTA, 30 мМ Трис-HCl (рН 7,6)

#### Изменение poly(U)-зависимого связывания фен-тРНК с 30S-субчастицами до и после их облучения (доза $5 \cdot 10^5$ кв./част.)

Образец	Poly(U)	имп/мин	Образец	Poly(U)	имп/мин
Не облучен	-	1000	Облучен	-	700
	+	12 000		+	12 000

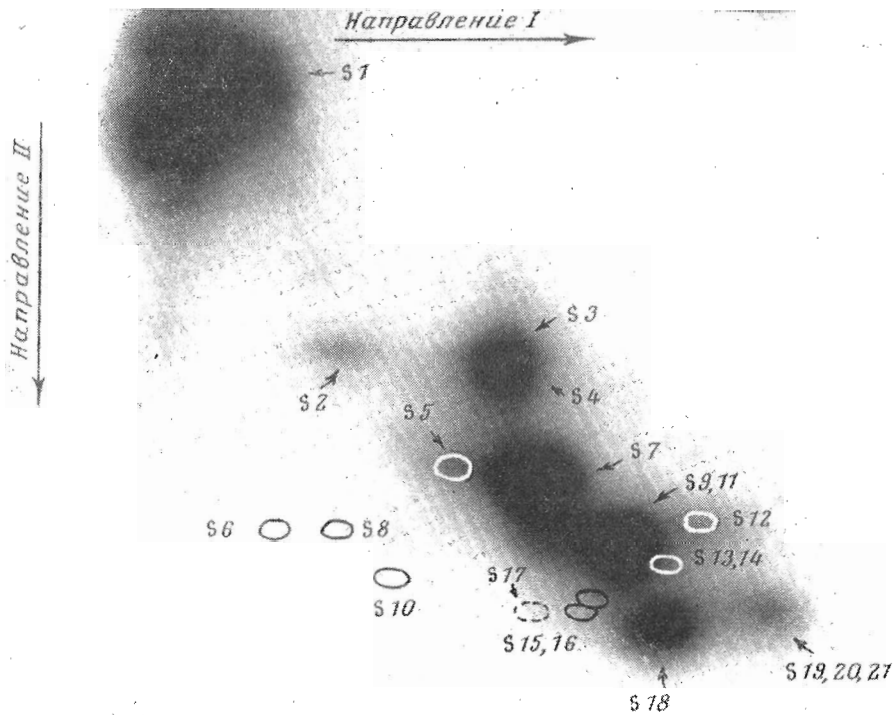


Рис. 4. Двумерный гель-электрофорез  $[^{125}\text{I}]$ -меченых 30S-рибосомальных белков, выделенных из необлученных 30S-субчастиц

тельствует об образовании ковалентных связей между 16S-РНК и рибосомальными белками, а материал, выделенный из этих фракций (фракции 7—10, рис. 2), представляет собой в основном «сшитые» РНП-частицы.

Литературные данные [13], а также наши результаты (рис. 4) показывают значительные различия в степени иодирования белков. Поэтому следует учесть, что полученные данные (рис. 3) отражают кинетику пришивки лишь тех белков, которые метятся иодом достаточно интенсивно. Резкое уменьшение ковалентного связывания рибосомальных белков с 16S-РНК в EDTA-частицах, в которых, как известно [14], большая часть контактов, характерных для интактных рибосом, нарушена, указывает на специфичность реакции образования сшивок.

*Анализ белкового состава сшитых РНП.* Для идентификации белков, ковалентно связанных с РНК в составе РНП-частиц, метку вводили после облучения и отделения непришитых белков. Это позволяет избежать потерь части  $[^{125}\text{I}]$  в ходе облучения и получить препараты РНП с более высокой радиоактивностью. Меченые РНП-частицы подвергали исчерпывающему гидролизу смесью панкреатической и гуаниловой РНКаз. Идентификацию пришитых белков проводили методом двумерного электрофореза в полиакриламидном геле по Мецу и Богораду [15]. В этой системе иодирование белков практически не влияет на их подвижность в геле (рис. 4).

Согласно литературным данным, иодирование приводит к неравномерному включению иода в белки [13]. Мы проанализировали распределение метки в белках, выделенных из иодированных 30S-субчастиц. Судя по распределению метки на радиоавтограмме (рис. 4), сильнее всего метятся белки S3, S7, S9, 11 и S18, с меньшей интенсивностью — белки S2, S4, S5, S12, S19, 20, 21, а белки S6, S8, S13, 14, S15, 16 и S17 на радиоавтограммах не видны вовсе.

Следует подчеркнуть, что во всех опытах иодирование белков проводили с помощью  $\text{ICl}$ . Как было показано Миллером и Сифердом [16], этот

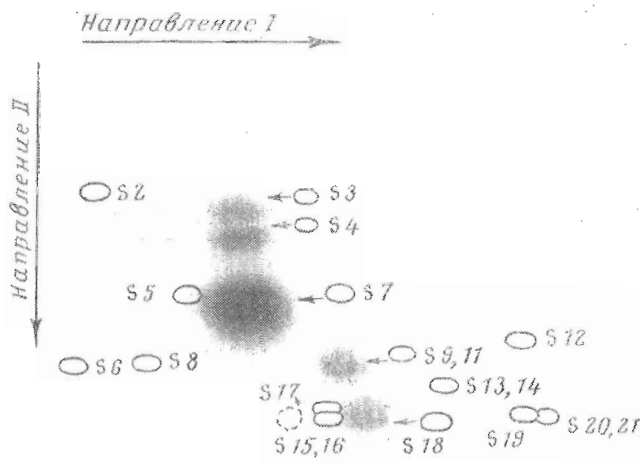


Рис. 5. Двумерный гель-электрофорез белков, выделенных из пу-  
клезного гидролизата РНК-белковых комплексов. Окрашенные  
белки-свидетели обозначены кружками

метод иодирования не дает существенной разницы в интенсивности мече-  
ния белков в зависимости от того, находятся они в свободном состоянии  
или в составе 30S-субчастицы. Исходя из этого, мы считали, что одни и те  
же белки мелятся одинаково как в составе 30S-субчастиц, так и в сшитых  
РНК-частицах.

Из рис. 5 видно, что распределение радиоактивности при электрофоре-  
зе белков, выделенных из нуклеазного гидролизата сшитых РНК, анало-  
гично распределению белков-свидетелей, за исключением небольшого ре-  
гулярного смещения пятен радиоактивных белков к старту в направле-  
нии I. Это обусловлено тем, что наличие небольших олигонуклеотидов,  
связанных с пришитыми белками, изменяет (уменьшает) подвижность та-  
ких белков только в направлении I (кислая система). В направлении II  
присутствие в системе ДДС- $\text{Na}$  нивелирует вклад дополнительных отри-  
цательных зарядов в белке, вносимых олигонуклеотидами. Именно такая  
аналогия в распределении белков с пришитыми фрагментами РНК и бел-  
ков-свидетелей позволяет достаточно надежно идентифицировать пришитые  
белки.

Сравнивая интенсивность пятен на радиоавтограммах после электрофоре-  
за белков из необлученных 30S-субчастиц (рис. 4) и из гидролизата сши-  
того  $^{125}\text{I}$ -РНК (рис. 5), можно сделать вывод, что к 16S-РНК в наиболь-  
шей степени пришивается белок S7, в меньшей степени — белки S3, S4,  
S9,11 и S18.

Полученные нами результаты о пришивке рибосомальных белков к  
16S-РНК интересно рассмотреть с точки зрения известных данных об  
РНК-белковых контактах в 30S-субчастицах [2]. Хорошо известно, что  
белки S4 и S7 контактируют с 16S-РНК и дают с нею устойчивые комплек-  
сы. Мы обнаружили, что при УФ-облучении белок S7 пришивается к  
16S-РНК в наибольшей степени, что согласуется с ранее опубликованными  
данными [10]. Образование связей между 16S-РНК и белком S4 также хо-  
рошо согласуется с результатами, ранее полученными в лаборатории Эбе-  
ля [6]. Пришивка белков S3, S9,11 и S18 к 16S-РНК доказывает, что эти  
белки имеют места контактов с РНК в нативной 30S-субчастице. Получен-  
ные результаты коррелируют с данными Хохкеппеля и др. [17] о способ-  
ности «открытой» формы 16S-РНК давать комплексы с этими белками [17].

Во время подготовки статьи к печати появилась работа Горелика [18], в которой автор идентифицировал белки 30S-субчастиц, пришивающиеся к 16S-РНК в процессе облучения. Выводы, сделанные в этой работе, в основном совпадают с результатами, полученными нами.

### Экспериментальная часть

70S-рибосомы *E. coli* MRE 600 выделяли по методу [19]. 30S- и 50S-субчастицы выделяли зональным центрифугированием [20] в роторе Ti-15 на центрифуге Beckman L5-50 (США).

*Облучение 30S-субчастиц.* 30S-субчастицы в буферном растворе, содержащем 100—300 мМ KCl, 20 мМ MgCl<sub>2</sub>, 10 мМ Трис-HCl (рН 7,5), облучали в кварцевых кюветах толщиной 0,1 см (*v* 0,25 мл) или 0,3 см (*v* 4 мл) с концентрацией 10 *D*<sub>260</sub>/мл и 3 *D*<sub>260</sub>/мл соответственно. Использовали установку для облучения, состоящую из трех ртутных ламп низкого давления мощностью 15 Вт каждая с отражателем. Образцы помещали на расстоянии 15 см от источника облучения и в ходе реакции охлаждали до 0° без перемешивания. В качестве химического актинометра был использован 1,3-диметилурацил [21]. Интенсивность светового потока составляла 6,3 · 10<sup>15</sup> кв./см<sup>2</sup>·с. Поглощенную энергию рассчитывали в квантах на частицу, учитывая оптическую плотность (~1) слоя облучаемого раствора.

*Введение [<sup>125</sup>I] в 30S-субчастицы.* Метку вводили как в исходные, так и в облученные 30S-субчастицы, а также в выделенные ковалентно сшитые РНК-белковые комплексы. Условия иодирования во всех случаях были одинаковыми. Использовали модифицированную методику Бола и др. [22]. Иодирование проводили в буферном растворе, содержащем 100 мМ KCl, 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 10 мМ Трис-HCl (рН 7,5), концентрация белка 10—1000 мкг/мл. Исходный раствор ICl (0,02 М) в 1 н. HCl готовили по методу Бола и др. [22]. Этот раствор разводили в соотношении 1 : 100 буфером для иодирования, содержащим Трис-основание. После разведения рН раствора должен быть равным 7,5. К раствору ICl добавляли 100 мКи — 5 мКи Na [<sup>125</sup>I] в щелочном растворе без носителя (Amersham, Англия, 48 мКи/мкг). Полученный раствор (0,2—0,5 мл) через 2 мин после смешивания добавляли к раствору, содержащему белок, из расчета 1 мкл разбавленного раствора ICl на 1 мкг белка и выдерживали 10 мин. Реакцию останавливали добавлением 1—5 мкл меркаптоэтанола. Все операции проводили при 0°, а ICl разбавляли буферным раствором непосредственно перед мечением. Избыток метки отделяли анализом против буфера для иодирования.

*Изучение ролу(U)-зависимого связывания фенол-тРНК с 30S-субчастицами* до и после облучения было проведено по описанной ранее методике [23]. Инкубационная смесь, растворенная в 0,2 мл буферного раствора (0,01 М Трис-HCl (рН 7,2), 0,02 М MgCl<sub>2</sub> и 0,01 М KCl), содержала 1,5 *D*<sub>260</sub> 30S-субчастиц, 1 *D*<sub>260</sub> ролу(U), 20 000 имп/мин [<sup>3</sup>H]-фен-тРНК. [<sup>3</sup>H]-фен-тРНК уд. акт. 11 Ки/ммоль. Пробы инкубировали 20 мин при 30°, затем добавляли 4 мл холодного буфера и фильтровали через фильтры VUFS (ЧССР), промывали буфером и просеивали в 10 мл толуольного сцинтиллятора (результаты см. в таблице).

*Анализ конформационных изменений 30S-субчастиц, связанных УФ-облучением.* а) 5—10 ОЕ при λ 260 нм 30S-субчастиц облучали 1 ч в буфере, содержащем 100 мМ KCl, 20 мМ MgCl<sub>2</sub>, 100 мМ Трис-HCl (рН 7,5) (с 6 мМ меркаптоэтанола и без него), или в буфере, содержащем 300 мМ KCl, 20 мМ MgCl<sub>2</sub>, 100 мМ Трис HCl (рН 7,5). Затем 30S-субчастицы концентрировали осаждением спиртом, растворяли в 0,2 мл соответствующего буфера и насыщали на 5—50 % сахарозный градиент, приготовленный на том же буфере. Центрифугировали 2 ч в роторе SW-50.1 (Beckman, L5-50, США) при 45 000 об/мин, +4°. Градиент раскапывали и во фракциях определяли оптическую плотность при 260 нм (*D*<sub>260</sub>) (см. рис. 1).

б) 1—2 ОЕ при  $\lambda$  260 нм облученных 30S-субчастиц диализовали против буфера, содержащего 20 мМ KCl, 1 мМ MgCl<sub>2</sub> и 25 мМ Трис-HCl (pH 7,5), и в объеме 50—100 мкл наслаивали на 3% полиакриламид — 0,5% агарозный гель [11]. После окончания электрофореза гели вынимали из трубок и сканировали при 260 нм на сканирующем спектрофотометре фирмы Юзе Лоебле (Англия).

*Выделение и характеристика ковалентно связанных РНК-белковых комплексов.* 30S-субчастицы (2—10 ОЕ при  $\lambda$  260 нм) осаждали спиртом, осадок растворяли в 0,2 мл буфера, содержащего 25 мМ Трис-HCl (pH 7,2), 1% ДДС-Na, 10 мМ EDTA, 6 мМ меркаптоэтанол, центрифугировали 20 мин при 4000 об/мин и наслаивали на 5—20% сахарозный градиент, приготовленный на буфере, содержащем 0,1% ДДС-Na, 2 мМ EDTA, 6 мМ меркаптоэтанол и 25 мМ Трис-HCl (pH 7,5). Центрифугировали 18 ч в роторе SW-40 при 38000 об/мин и 4° на центрифуге Beckman L5-50 (США). Во фракциях определяли оптическую плотность и радиоактивность. Результаты представлены на рис. 2. В кинетических опытах [<sup>125</sup>I] вводили в 30S-субчастицы как до, так и после облучения. Отщепившийся в ходе облучения [<sup>25</sup>I] определяли по количеству метки, остающейся в супернатанте после спиртового осаждения облученных 30S-субчастиц. Степень пришивки белков к 16S-РНК определяли как отношение количества [<sup>125</sup>I] во фракциях, содержащих РНК, к общему количеству [<sup>125</sup>I] во всех фракциях сахарозного градиента. Результаты см. на рис. 3.

*Идентификация белков, выделенных из сшитых РНК-белковых комплексов (сшитых РНП).* В сшитые РНП, выделенные, как описано выше, вводили метку, гидролизовали смесью панкреатической РНКазы и гуанил-РНКазы (из *Actinomyces aureovercillatus* Kras et Di Shen, штамм 1306) [24]. В тиличном опыте на 1 ОЕ при  $\lambda$  260 нм гидролизуемой РНК добавляли 2—5 мкг РНКазы и 42 ед. акт. гуанил-РНКазы, гидролиз проводили 18 ч при 40°. К гидролизату в качестве носителей и свидетелей добавляли 100—150 мкг белков из немеченых 30S-субчастиц, раствор насыщали мочевиной и добавляли дитиотреит до концентрации 0,05%.

Двумерный электрофорез белков проводили по модифицированному методу Меца и Богорада [14]. В буферных растворах бис-Трис был заменен Трисом в той же концентрации, а морфолинэтансульфокислота — сульфаниловой кислотой. Электрофореграммы прокрашивали кумасси голубым R-250 (Serva, США). Прокрашенный гель помещали в полиэтиленовую пленку и экспонировали 24—96 ч с рентгеновской пленкой РТ-1 (Шосткинский химический завод).

Авторы искренне благодарят Т. М. Муравьеву за выделение рибосом, Л. В. Николаеву за исследование функциональной активности облученных 30S-субчастиц и И. Н. Шатского за интерес к работе и высказанные критические замечания.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Kurland C. G. (1974) in Ribosomes (M. Nomura, A. Tissières, P. Lengyel, eds.), pp. 309—331, Cold Spring Harbor Laboratory, N. Y.
2. Zimmermann R. A. (1974) in Ribosomes (M. Nomura, A. Tissières, P. Lengyel, eds.), pp. 225—269, Cold Spring Harbor Laboratory, N. Y.
3. Smith K. C. (1976) in Aging, Carcinogenesis and Radiation Biology (K. C. Smith, ed.), pp. 67—83, Plenum Press, London — N. Y.
4. Budowsky E. I., Simukova N. A., Turchinsky M. F., Boni I. V., Skoblov Yu. S. (1975) Nucleic Acids Res., 3, 261—276.
5. Budzik G. P., Zan S. S. M., Schoemaker M. U. P., Schimmel P. R. (1975) J. Biol. Chem., 250, 4433—4439.
6. Ehresmann B., Reinbolt Y., Ebel J. P. (1975) FEBS Lett., 58, 106—112.
7. Markovits A. (1972) Biochim. et biophys. acta, 281, 522—534.
8. Gorelic L. (1975) Biochim. et biophys. acta, 390, 209—225.
9. Gorelic L. (1975) Biochemistry, 14, 4622—4633.
10. Möller K., Brimacombe R. (1975) Molec. Gen. Genet., 141, 343—355.
11. Dahlberg A. E., Dingman C. W., Peacock A. C. (1969) J. Mol. Biol., 41, 139—147.

12. Turchinsky M. F., Broude N. E., Kussova K. S., Abdurashidova G. G., Muchamedganova E. V., Budowsky E. I., Schatsky I. N., Bystrova T. I. *Eur. J. Biochem.*, in press.
13. Craven G. R., Rigby R., Changchien L.-M. (1974) in *Ribosomes* (M. Nomura, A. Tissières, P. Lengyel, eds.), pp. 559—571, Cold Spring Harbor Laboratory, N. Y.
14. Newton J., Rinke J., Brimacombe R. (1975) *FEBS Lett.*, **51**, 215—218.
15. Metz L. Y., Bogorad L. (1974) *Anal. Biochem.*, **57**, 200—210.
16. Miller R. V., Syphered P. S. (1973) *J. Mol. Biol.*, **78**, 525—538.
17. Hochkeppel H.-K., Spicer E., Craven G. R. (1976) *J. Mol. Biol.*, **101**, 155—170.
18. Gorelic L. (1976) *Biochemistry*, **15**, 3579—3590.
19. Traub P., Mizushima C., Lowry C. U., Nomura M. (1971) in *Methods in Enzymology* (K. Moldave, ed.), XX, part C, pp. 391—408, Acad. Press, N. Y.—London.
20. Eikemberry E. F., Bickle T. A., Traut R. R., Price C. A. (1970) *Eur. J. Biochem.*, **12**, 113—116.
21. Burr J. G., Park E. H., Chan A. (1972) *J. Amer. Chem. Soc.*, **94**, 5866—5872.
22. Ball W. F., Helmkamp R. W., Davis T. P., Izzo M. J., Goodland R. Z., Contreiras M. A., Spar Y. Z. (1966) *Proc. Soc. Exptl Biol. and Med.*, **122**, 407—414.
23. Гаврилова Л. П., Смолянинов В. В. (1971) *Молекулярн. биол.*, **5**, 883—891.
24. Татарская Р. И., Абросимова-Амельянчик Н. М., Аксельрод В. Д., Коренько А. И., Венкстерн Т. В., Мирзабеков А. Д., Баев А. А. (1964) *Докл. АН СССР*, **157**, 725—728.

Поступила в редакцию  
19.I.1977

### UV-INDUCED RNA-PROTEIN CROSS-LINKING IN 30S SUBUNITS OF *E. COLI* RIBOSOMES

TURCHINSKY M. F., BROUDE N. E., KUSOVA K. S.,  
ABDURASHIDOVA G. G., BUDOWSKY E. I.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy  
of Sciences of the USSR, Moscow; Department of Bioorganic  
Chemistry, Academy of Sciences of the Uzbek SSR, Tashkent*

The UV-induced cross-linking between 16S RNA and ribosomal proteins in 30S subunits of *E. coli* ribosomes was studied. It was shown that UV-irradiation ( $5 \cdot 10^5$  quanta/subparticle) causes covalent binding of ribosomal proteins to 16S RNA and is not accompanied by the aggregation or unfolding of 30S subunits. Using [ $^{125}$ I] labeled 30S subunits, the ribosomal proteins cross-linked to 16S RNA were identified as S7, S3, S4, S9, 11 and S18.