



## ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 577.1 + 547.963.32.04

## ТОПОГРАФИЯ рРНК В РИБСОМАХ

[II. НОНАНУКЛЕОТИД, ОТЩЕПЛЯЕМЫЙ ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ РНКазой I  
ОТ 30S-СУБЧАСТИЦ РИБСОМ *E. COLI*\*]*Тетерина Н. Л., Каграманова В. К., Копылов А. М.,  
Богданов А. А.**Лаборатория молекулярной биологии и биоорганической химии  
им. А. Н. Белозерского и химический факультет  
Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова*

В последнее время появился ряд данных о прямом участии рРНК в биосинтезе белка [2]. В связи с этим актуальной задачей представляется изучение участков РНК, находящихся «на поверхности» рибосомы, так как, видимо, именно они могут вступать во взаимодействия с другими компонентами белоксинтезирующей системы [3—6].

В данной работе мы изучали участки РНК, которые могут быть отщеплены от рибосомы в раствор при действии панкреатической РНКазы, а следовательно, полностью находятся на «поверхности» рибосомы и при этом не вовлечены в сильные взаимодействия с белками и РНК.

При действии панкреатической РНКазы на 30S-субчастицу рибосом отщепляется в раствор ~15% нуклеотидного материала РНК [7], который легко отделяется от рибосом гель-фильтрацией. Важно отметить, что при данных условиях гидролиза 30S-субчастица не теряет свои белки и сохраняет исходное значение коэффициента седиментации.

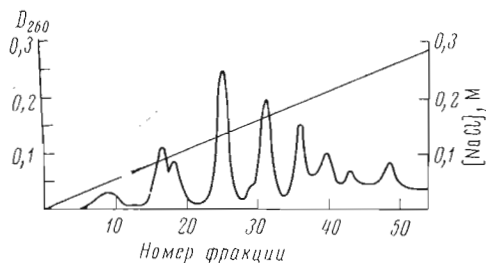
Отщепляемая фракция РНК представляет собой набор олигонуклеотидов длиной от моно- до нонамеров (рисунок). Характерной особенностью является отсутствие среди этих олигонуклеотидов гепта- и октамеров и присутствие нонануклеотида (так называемый А9, фракции 47—51), отщепляемого почти количественно (0,8—0,9 М на 1 М РНК).

Рехроматография олигонуклеотида А9 на DEAE-целлюлозе в кислой среде подтвердила его гомогенность.

Олигонуклеотид А9 имеет состав  $A_6G_2U$ . Полный гидролиз А9 РНКазой Т<sub>1</sub> дает 3 продукта — Т-1, Т-3 и Т-5, которые соответствуют Ур, А-А-Gr и А-А-А-А-Gr. Таким образом, структура А9 выглядит следующим образом: (AAAAG, AAG)Ур. Для того чтобы правильно расставить блоки Т-3 и Т-5, был проведен частичный гидролиз А9 фосфодиэстеразой змеиного яда, и оказалось, что 5'-концевая последовательность принадлежит Т-5. Отсюда однозначно выводится структура олигонуклеотида А9: А-А-А-А-Г-А-А-Г-Ур.

Этот олигонуклеотид совпадает с олигонуклеотидом № 10 в каталоге Эресман и соавт. [8]. Он принадлежит секции «А» 3'-концевого района

\* Сообщение 1 см. [1].



Хроматографическое разделение отщепляемой нуклеотидной фракции РНК на DEAE-целлюлозе в 10 мМ Трис-НСl (рН 7,6), 7 М мочевины

она 3'-концевой части молекулы РНК в 30S-субчастице [3, 5]. Более того, Сэнтер с соавт. обнаружили фрагмент олигонуклеотида А9 в продуктах Т<sub>1</sub>-РНКазного гидролиза 30S-субчастицы [5].

Роль идентифицированного в этой работе участка 16S-РНК, расположенного на «поверхности» 30S-субчастицы, остается в настоящее время неясной.

30S-субчастицы рибосом *E. coli*, штамм MRE-600, получали, как было описано ранее [7], и очищали ультрацентрифугированием в буферном растворе 50 мМ Трис-НСl (рН 7,5), 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 500 мМ NH<sub>4</sub>Cl. Гидролиз 30S-субчастиц РНКазой проводили 5 ч при 25° в буфере 10 мМ Трис-НСl (рН 7,5), 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 100 мМ KCl; концентрация панкреатической РНКазы (Worthington, США) составляла 0,5 мкг на 20 ОЕ<sub>260</sub> 30S-субчастиц. Отщепляемые олигонуклеотиды отделяли от субчастиц гель-фильтрацией на сефадексе G-50 в буфере 10 мМ Трис-НСl (рН 7,5), 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 50 мМ KCl и разделяли на DEAE-целлюлозе (DE-32 фирмы Whatmann или Vistec D-1 фирмы Koch-Light) в условиях Томлинсона — Тенера [10] (см. рисунок) при рН 7,6. Рехроматографию олигонуклеотида А9 (фракции 47—51) проводили на DEAE-целлюлозе в растворе 50 мМ муравьиной кислоты, рН 3,6, содержащем 7 М мочевины, в линейном градиенте концентрации NaCl 0—0,3 М. Гидролиз Т<sub>1</sub>-РНКазой олигонуклеотида А9 проводили в 50 мкл раствора, содержащего 25 мкг Т<sub>1</sub>-РНКазы (Sankyo, Япония), 2,5 мкмоль NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> (рН 8,0), 1 мкмоль MgCl<sub>2</sub>. Частичный гидролиз фосфодиэстеразой змеиного яда (Worthington) в присутствии щелочной фосфатазы *E. coli* (Worthington) проводили в буфере 50 мМ NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> (рН 8,0), содержащем 20 мМ MgCl<sub>2</sub>. Определение нуклеозидного состава олигонуклеотидов после их гидролиза смесью фосфодиэстеразы змеиного яда и щелочной фосфатазы *E. coli* выполняли на жидкостном хроматографе высокого давления фирмы Varian (Швейцария), модель 8500, на колонке (2,4 мм × 25 см) с катионообменником Aminex A-7 (Bio-Rad, США) в 0,2 М растворе формиата аммония, рН 4,4, при 20°.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Тетерина Н. Л., Копылов А. М., Богданов А. А. (1978) Биохимия, **43**, 229—234.
2. Brimacombe R. (1976) Nature, **262**, 740—742.
3. Noller H. F. (1974) Biochemistry, **13**, 4694—4703.
4. Chapman N. M., Noller H. F. (1977) J. Mol. Biol., **109**, 131—149.
5. Santer M., Santer U. (1973) J. Bacteriol., **116**, 1305—1313.
6. Santer M., Shane S. (1977) J. Bacteriol., **130**, 900—910.
7. Копылов А. М., Тетерина Н. Л., Потапов А. П., Василенко С. К., Богданов А. А. (1976) Биоорганическая химия, **2**, 1642—1651.
8. Ehresmann Ch., Stiegler P., Fellner P., Ebel J. P. (1972) Biochimie, **54**, 853—900.
9. Ehresmann Ch., Stiegler P., Fellner P., Ebel J. P. (1975) Biochimie, **57**, 741—748.
10. Tomlinson R. V., Tener G. M. (1962) J. Amer. Chem. Soc., **84**, 2644—2645.

Поступило в редакцию  
22.X.1977

**rRNA TOPOGRAPHY IN RIBOSOMES. II. NONANUCLEOTIDE RELEASED  
BY PANCREATIC RIBONUCLEASE FROM *E. COLI* 30S RIBOSOMES**

**TETERINA N. L., KAGRAMANOVA V. K., KOPYLOV A. M.,  
BOGDANOV A. A.**

*A. N. Belozersky Laboratory of Molecular Biology  
and Bioorganic Chemistry, M. V. Lomonosov State University, Moscow*

Digestion of 30S ribosomes with pancreatic RNase has released from the ribosomal «surface» an oligonucleotide fraction. The resulting unique nonanucleotide has been shown to have a structure of AAAAGAAGUp. This sequence is known to be located near the 3'-end of the 16S RNA.

---