



УДК 547.963.32.04

МОДИФИКАЦИЯ 3'-КОНЦЕВЫХ НУКЛЕОЗИДОВ РНК ГАПТЕНОМ
НА ОСНОВЕ ЛАКТОЗЫ

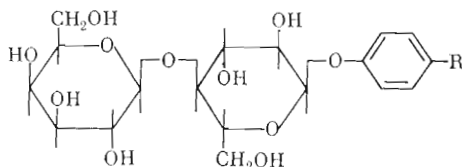
Шатский И. Н., Мочалова Л. В., Богданов А. А.

Межфакультетская проблемная лаборатория молекулярной биологии
и биоорганической химии им. А. Н. Белозерского
Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова

В настоящем сообщении описывается схема синтеза гаптена на основе лактозы и его использование для модификации 3'-концевых нуклеозидных остатков РНК. Выбор лактозы был продиктован следующими соображениями: 1) остаток сахара обладает ярко выраженными гидрофильными свойствами, обеспечивающими хорошую растворимость гаптенов в воде; 2) такие гаптены не должны обладать заметной сорбцией на молекулах РНК или белка; 3) диссоциация комплекса антиген — антитело может быть легко достигнута под действием свободной лактозы, вещества, инертного по отношению к РНК и белкам, что необходимо, например, для отделения модифицированных гаптеном макромолекул от немодифицированных с помощью аффинной хроматографии.

Антитела к лактозе были получены иммунизацией кроликов в лимфоузле конъюгатом γ -глобулина быка и лактозы; конъюгат был получен с использованием реакции тирозиновых остатков белка с диазотированным *n*-аминофенол- β -*D*-лактозидом [1], который был любезно предоставлен проф. Л. Вовси (Калифорнийский университет, Беркли, США).

Соединение, пригодное для модификации 3'-концевых остатков рибозы РНК — 1-*N*-[*n*-(β -*D*-лактозил)-бензил]-6-аминогексилламин (II), было получено реакцией *n*-оксibenзальдегид- β -*D*-лактозида (I) с избытком 1,6-диаминогексана с последующим восстановлением основания Шиффа NaBH_4 . Очистка продукта проводилась БХ.

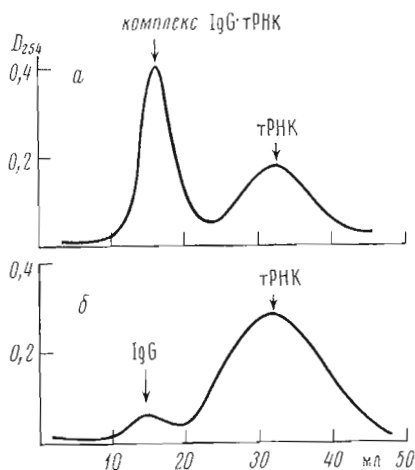


(I) R = CHO

(II) R = $\text{CH}_2\text{NH}(\text{CH}_2)_6\text{NH}_2$

Лактозид (I) получен конденсацией ацетобромлактозы с *Na*-фенолятом *n*-оксibenзальдегида с последующим дезацетилированием метилатом бария

Хроматография на колонке с сефадексом G-100 (1,2 × 40 см) смеси лактозных антител с тРНК, модифицированной (а) и не модифицированной (б) гаптенем. Элюция буфером 0,01 М триэтаноламин — HCl (рН 7,5), 0,001 М MgCl₂, 0,1 М KCl, 40 мл/ч. 3 ОЕ (D₂₆₆) тРНК смешивали с 1 ОЕ (D₂₈₆) γ-глобулина и инкубировали сначала 5 мин при 37° и далее 2 ч при 0°



в абсолютном метаноле по модифицированной методике [2]. Строение лактозида (I) подтверждалось БХ его гидролизата в HCl в присутствии веществ-свидетелей — лактозы, галактозы и *n*-оксибензальдегида, а также иммунохимическими методами. В последнем случае γ-глобулин человека обрабатывали лактозидом (I) в боратном буфере, рН 9,0, с последующим восстановлением предположительно образующегося основания Шиффа NaBH₄. Полученный конъюгат лактозида (I) и γ-глобулина человека давал реакцию преципитации по методу Ухтерлони с кроличьими антителами к лактозе.

Возможность модификации 3'-концевых нуклеозидных остатков РНК гаптенем (II) была проверена на примере суммарной тРНК дрожжей. Для этого окисленную периодатом натрия РНК инкубировали 18 ч с гаптенем (II) в боратном буфере, рН 9,0, после чего проводили восстановление модифицированной 3'-концевой рибозы NaBH₄ для предотвращения β-элиминации концевого нуклеозида [3]. Степень модификации оценивали по реакции образования комплекса между модифицированной тРНК и антителами к лактозе. Комплекс легко отделялся от немодифицированной тРНК при хроматографии на сефадексе G-100 (см. рисунок). Степень модификации составляла обычно 40—45%.

Полученное нами производное лактозы (II) может быть использовано для модификации 3'-концевых нуклеозидных остатков рРНК, мРНК и тРНК и последующей локализации функциональных центров рибосом с помощью «иммунной электронной микроскопии» [4—6], для физического картирования генов РНК на хромосомах и других целей.

Авторы выражают благодарность М. Кожухаровой за помощь при получении антител.

ЛИТЕРАТУРА

1. Klinman N. R., Karush F. (1967) *Immunochemistry*, 4, 387—392.
2. Babers H. F., Goebel W. F. (1934) *J. Biol. Chem.*, 105, 473—476.
3. Khym J. X. (1963) *Biochemistry*, 2, 344—350.
4. Tischendorf G. W., Zeichardt H., Stöffler G. (1975) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 72, 4820—4824.
5. Lake J. A. (1976) *J. Mol. Biol.*, 105, 131—159.
6. Politz S. M., Glitz D. G. (1977) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 74, 1468—1472.

Поступило в редакцию
22.X.1977

**MODIFICATION OF RNA 3'-TERMINAL NUCLEOSIDES BY LACTOSE—
CONTAINING HAPTEN**

SHATSKY I. N., MOCHALOVA L. V., BOGDANOV A. A.

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

The synthesis has been reported of lactose-containing hapten, 1-N-[*p*-(β -*D*-lactoside)-benzyl]-6-aminohexylamine, which can be used for modification of the RNA 3'-terminal nucleosides. The lactoside has been linked to the periodate-oxidized yeast tRNA, and the RNA thus modified shown to form stable complexes with antibodies raised previously against the conjugate of bovine γ -globulin and *p*-aminophenol- β -*D*-lactoside diazonium salt. It is suggested that the title compound might prove very useful in the immune electron microscopy studies, as well as for gene physical mapping of chromosomes.
