



БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

том 6 * № 4 * 1980

ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 547.963.32.04

ИЗМЕНЕНИЕ РНК-БЕЛКОВЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ПРИ АССОЦИАЦИИ 50S И 30S СУБЧАСТИЦ РИБОСОМ *E. COLI*

*Абдурашидова Г. Г., Пивазян А. Д., Турчинский М. Ф.,
Будовский Э. И.*

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

УФ-индукцированное образование полинуклеотид-белковых сшивок является удобным способом для изучения непосредственных взаимодействий (контактов) между белками и РНК в рибосомных рибонуклеопротеинах, а также изменений этих контактов при функционировании рибосомы [1–4]. В настоящей работе этот метод использован для выяснения межсубчастических РНК-белковых контактов в 70S рибосоме *E. coli* и влияния ассоциации 30S и 50S субчастиц на РНК-белковые взаимодействия в каждой из субчастиц.

Для маркирования белков, которые при УФ-облучении образуют ковалентные спивки с РНК в составе свободных субчастиц и в составе 70S рибосом, использовали два подхода. В первом случае облучению подвергали ^{32}P -меченные субчастицы и их ассоциаты (70S рибосомы) с немеченными субчастицами. Наличие радиоактивного олигонуклеотида, связанного с белком (после исчерпывающего действия РНКаз на облученный рибонуклеопротеин), свидетельствует о наличии контактов этого белка с соответствующей РНК. Во втором случае после облучения немеченых субчастиц и рибосом центрифугированием в диссоциирующих условиях выделяли 16S и/или 23S РНК с приштымыми к ним белками, вводили в эти белки ^{125}I [3] и после действия РНКаз идентифицировали белки, спищие с 16S и/или 23S РНК. Идентификацию спищих белков, несущих ^{32}P -или ^{125}I -метку, проводили с помощью двумерного электрофореза в поликариламидном геле и авторадиографии [3].

Таблица 1

УФ-индукционные (λ 254 нм, 20 квант/нуклеотид) РНК-белковые сшивки
в 30S субчастицах до и после их ассоциации в 70S рибосому

16S РНК	Белки 30S субчастиц								
	S3	S4	S7	S9, S11	S10	S13, S14	S15, S16, S17	S18	S19, S20, S21
В свободных 30S частицах	+	+	+	+	-	+	+	+	+
В 70S рибосомах	+	+	+	+	+	+	+	-	+

Таблица 2

УФ-индукционные ($\lambda=254\text{нм}$, 20 квант/нуклеотид) РНК-белковые сшивки в 50S субчастицах до и после их ассоциации в 70S рибосому

23S+5S РНК	Белки 50S субчастиц											
	L2	L3	L4	L5	L6	L7/L42	L9	L11	L20	L25	L27	L30
В свободных 50S суб- частицах	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+
В 70S рибо- сомах	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-

Таблица 3

Белки 70S рибосомы, участвующие в межсубчастических РНК-белковых контактах и контактирующие с тРНК в А- и Р-участках рибосомы [5] по данным УФ-индукционных РНК-белковых сшивок

РНК в 70S рибосоме	S4	S5	S7	S9	S10	S11	S18	L2	L4	L5	L6	L9	L7/42	L11	L16	L20	L27
16S РНК	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
23S+5S РНК	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+
тРНК в А-участ- ке	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-
тРНК в Р-участ- ке	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+

Как видно из табл. 1, 2, ассоциация субчастиц вызывает в 30S субчастице лишь появление (или усиление до детектируемого уровня) контакта 16S РНК с белком S10 и исчезновение (или ослабление) контакта с белком S18. Более существенные изменения происходят в составе 50S субчастицы: становятся достоверными контакты 23S РНК с белками L9, L11 и L27, но прекращаются (в пределах чувствительности метода) контакты с белками L3, L6, L7/L42, L25 и L30.

У значительного количества белков при ассоциации субчастиц появляются контакты с РНК из другой субчастицы (табл. 3), т. е. эти белки принимают участие в образовании 70S рибосомы из субчастиц. Очевидно, что эти белки должны быть расположены на соприкасающихся поверхностях субчастиц, т. е. там, где располагаются мРНК, аминоацил-тРНК и пептидил-тРНК, а также пептидилтрансферазный центр. И действительно, многие из белков, участвующих в межсубчастических РНК-белковых контактах, контактируют также с тРНК, локализованными в А- и Р-сайтах [5] и с мРНК (будет опубликовано отдельно). Следует подчеркнуть, что многие белки в составе 70S рибосом контактируют одновременно с несколькими РНК (S4, S7, S9, S10, S11, S18, L2, L4, L5, L9, L11, L16, L20 и L27).

ЛИТЕРАТУРА

1. Möller K., Brimacombe R. (1975) Mol. Gen. Genet., 141, 343–355.
2. Турчинский М. Ф., Броуде Н. Е., Кусова К. С., Абдурашидова Г. Г., Будовский Э. И. (1977) Биоорганс. химия, 3, 1013–1020.
3. Turchinsky M. F., Broude N. E., Kussova K. S., Abdurashidova G. G., Muchamedanova E. V., Schatsky I. N., Bystrova T. F., Budowsky E. I. (1978) Eur. J. Biochem., 90, 83–88.

4. Броуде И. Е., Кусова К. С., Медведева Н. И., Будовский Э. И. (1979) Биоорганическая химия, 5, 1352–1360.
5. Abdurashidova G. G., Turchinsky M. F., Aslanov Kh. A., Budowsky E. I. (1979) Nucleic Acids Res., 6, 3891–3909.

Поступило в редакцию
30.XI.1979

ALTERATION OF THE RNA-PROTEIN CONTACTS UPON ASSOCIATION OF 50S AND 30S SUBUNITS OF *E. COLI* RIBOSOME

ABDURASHIDOVA G. G., PIVAZYAN A. D., TURCHINSKY M. F.,
BUDOWSKY E. I.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy
of Sciences of the USSR, Moscow*

By means of the UV-induced RNA-protein cross-links it was demonstrated that the association of 50S and 30S subunits of *E. coli* ribosome resulted in the alteration of the RNA-protein interaction inside the ribosomal subunits — the contacts of 16S RNA with protein S10 became detectable and with protein S18 undetectable. In 50S subunit the contacts of 23S RNA with proteins L9, L11 and L27 became detectable, and those with L3, L6, L7/L12, L25 and L30 undetectable. Within the 70S ribosome proteins S4, S7, S9, S10, S11, S18 and L2, L4, L5, L9, L11, L16, L20 contacted with RNA from 50S and 30S subunits.

Технический редактор *Е. С. Кузьмишина*

Сдано в набор 18.01.80 Подписано к печати 05.03.80 Т-01460 Формат бумаги 70×103^{1/16}
Высокая печать Усл. печ. л. 14,0 Уч.-изд. л. 15,2 Бум. л. 5,0 Тираж 875 экз. Зак. 2708

Издательство «Наука», 103717 ГСП, Москва, К-12, Подсосенский пер., 21
2-я типография издательства «Наука», 121099, Москва, Шубинский пер., 10