



УДК 579.84.11 : 579.25'113 : 577.113.5

© 1990 г.

В. М. Крюков, Е. Н. Зайцев\*, Н. П. Кузьмин,  
А. А. Баев

СТРУКТУРА ГЕНА *recA* *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов АН СССР, Пушкино  
Московской обл.;

\* Ленинградский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова АН СССР,  
Гатчина

Определена нуклеотидная последовательность фрагмента ДНК из *Pseudomonas aeruginosa* длиной 1206 п. о., кодирующая клонированный ранее ген *recA*. Анализ структуры гена показал наличие открытой рамки считывания, соответствующей белку с молекулярной массой 36 808, который имеет высокую степень гомологии с белком *gesA* из *Escherichia coli* (70%). Гомология ДНК значительно меньше (57%) из-за высокого содержания G-C-пар (67%), характерного для ДНК псевдомонад. С использованием нуклеазы S1 и обратной транскриптазы однозначно показано, что в клетках *P. aeruginosa* и *E. coli* транскрипция гена *recA*<sub>РА</sub> начинается с А или Т. В отличие от области -35 область -10 показывает гомологию с промоторной консенсус-последовательностью для *E. coli*. Сравнение первичных структур белков *gesA*<sub>РА</sub> и *gesA*<sub>ЕС</sub> показало, что белок *gesA*<sub>РА</sub> короче на 7 аминокислотных остатков и отличается от *gesA*<sub>ЕС</sub> в 108 позициях. Наибольшая негомология выявлена в концевой области. Анализ гибридных белков *gesA*<sub>РА</sub>\* с измененной С-концевой частью позволяет предположить ее несущественность для проявления основных активностей белка *gesA*.

Белок *gesA*<sub>ЕС</sub>, продукт гена *recA* *E. coli*, является полифункциональным белком, принимающим участие в процессах рекомбинации и регулирующим экспрессию ряда важнейших клеточных процессов, объединяемых обычно под общим термином «SOS-ответ» и включающих репарацию ДНК, мутагенез, индукцию профагов, необычную репликацию ДНК и др. [1]. Способность белка *gesA* играть ключевую роль в этих процессах обуславливается его двумя основными функциональными активностями, выражающимися в способности катализировать направленную синхроническую реакцию между нитью ДНК одной из молекул и комплементарной ей нитью другой, что лежит в основе инициации гомологической рекомбинации между молекулами ДНК, и способности стимулировать расщепление репрессоров умеренных бактериофагов и белка *lex A*, являющегося репрессором как самого гена *recA*, так и большинства других генов, принимающих участие в SOS-ответе [2, 3]. Для проявления этих двух активностей *in vitro* требуется наличие как минимум трех кофакторов — АТР, олиго- или полинуклеотида (однонитевой ДНК) и однонитевого ДНК-связывающего белка SSB [4]. Белок *gesA* проявляет при этом свойства ДНК-зависимой АТР-азы [1].

Фундаментальная роль белка *gesA* в метаболизме клеточных процессов позволяет предположить, что гены, аналогичные гену *recA* *E. coli*, должны быть эволюционно консервативны и, следовательно, могут быть обнаружены у разных микроорганизмов. Это было подтверждено клонированием в *E. coli* *recA*-подобных генов из *Proteus mirabilis* [5], *Rhizobium meliloti* [6] и ряда других микроорганизмов [7]. Существование белка, аналогичного белку *gesA* *E. coli*, показано и для грамположительных бактерий [8]. Более того, имеются экспериментальные данные, позволяющие предположить наличие SOS-ответа и в клетках эукариот [9]. Из *Ustilaga maydis* [10] выделен белок, сходный по ряду свойств с белком *gesA* *E. coli*.

CCC GGGCTAGCCGGCCTGCGGGCAACCGTTCCGGAACATTCTCCCGTCCGGGGGTAGGCC																				60	
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <span>-10</span> <span>+1</span> </div> AGCGACTTGCCCTGTGGAATAACTGTCTACTTATACAGTTGTTCGTGGCCGTCGCGGCC																				120	
fMet Asp Glu Asn Lys Lys Arg Ala Leu Ala																				9	
GCCCTGACTTCGCGAGGACTTCA ATG GAC GAG AAC AAG AAG CGC GCC CTG GCC																					173
Ala Ala Leu Gly Gln Ile Glu Arg Gln Phe Gly Lys Gly Ala Val Met																					25
GCG GCC CTG GGA CAG ATC GAA CGC CAA TTC GGC AAA GGC GCG GTC ATG																					221
Arg Met Gly Asp His Glu Arg Gln Ala Ile Pro Ala Ile Ser Thr Gly																					41
CGC ATG GGC GAC CAT GAG CGC CAG GCG ATC CCG GCC ATC TCC ACC GGC																					269
Ser Leu Gly Leu Asp Ile Ala Leu Gly Ile Gly Gly Leu Pro Lys Gly																					57
TCC CTG GGC CTG GAC ATC GCC CTC GGC ATC GGC GGC CTG CCC AAG GGC																					317
Arg Ile Val Glu Ile Tyr Gly Pro Glu Ser Ser Gly Lys Thr Thr Leu																					73
CGG ATC GTC GAG ATC TAC GGT CCG GAA TCC TCG GGC AAG ACC ACC CTG																					365
Thr Leu Ser Val Ile Ala Glu Ala Gln Lys Gln Gly Ala Thr Cys Ala																					89
ACC CTC TCG GTG ATC GCC GAG GCC CAG AAA CAG GGC GCC ACC TGT GCC																					413
Phe Val Asp Ala Glu His Ala Leu Asp Pro Asp Tyr Ala Gly Lys Leu																					105
TTC GTC GAC GCC GAG CAC GCG CTC GAT CCC GAC TAT GCC GGC AAG CTG																					461
Gly Val Asn Val Asp Asp Leu Leu Val Ser Gln Pro Asp Thr Gly Glu																					121
GGC GTC AAC GTC GAC GAC CTG CTG GTC TCC CAG CCG GAC ACC GGC GAG																					509
Gln Ala Leu Glu Ile Thr Asp Met Leu Val Arg Ser Asn Ala Val Asp																					137
CAG GCC CTG GAA ATC ACC GAC ATG CTG GTG GGC TCC AAC CCG GTC GAC																					557
Val Ile Ile Val Asp Ser Val Ala Ala Leu Val Pro Lys Ala Glu Ile																					153
GTG ATC ATC GTC GAC TCC GTG GCA GCG CTG GTA CCC AAG GCC GAG ATC																					605
Glu Gly Glu Met Gly Asp Ala His Val Gly Leu Gln Ala Arg Leu Met																					169
GAA GGC GAG ATG GGC GAC GCC CAC GTC GGC CTG CAG GCT CGC CTG ATG																					653
Ser Gln Ala Leu Arg Lys Ile Thr Gly Asn Ile Lys Asn Ala Asn Cys																					185
TCC CAG CGC CTG CGC AAG ATC ACC GGC AAT ATC AAG AAC GCC AAC TGC																					701
Leu Val Ile Phe Ile Asn Gln Ile Arg Met Lys Ile Gly Val Met Phe																					201
CTG GTC ATC TTC ATC AAC CAG ATC CGC ATG AAG ATC GGC GTC ATG TTC																					749
Gly Asn Pro Glu Thr Thr Thr Thr Gly Gly Asn Ala Leu Lys Phe Tyr Ala																					217
GGC AAC CCG GAA ACC ACC GGC GGT AAC GCA CTG AAG TTC TAC GCC																					797
Ser Val Arg Leu Asp Ile Arg Arg Thr Gly Ala Val Lys Glu Gly Asp																					233
TCG GTC CGC CTG GAC ATC CGT CGT ACC GGC GCG GTG AAG GAA GGC GAC																					845
Glu Val Val Gly Ser Glu Thr Arg Val Lys Val Val Lys Asn Lys Val																					249
GAG GTG GTG GGT AGC GAA ACC CGC AAG GTG GTG AAG AAC AAG GTT																					893
Ser Pro Pro Phe Arg Gln Ala Glu Phe Gln Ile Leu Tyr Gly Lys Gly																					265
TCC CCG CCG TTC CGC CAG GCC GAG TTC CAG ATC CTC TAC GGC AAG GGC																					941
Ile Tyr Arg Thr Gly Glu Ile Ile Asp Leu Gly Val Gln Leu Gly Leu																					281
ATC TAC CGT ACC GGC GAG ATC ATC GAC CTG GGC GTG CAA TTG GGC CTG																					989
Val Glu Lys Ser Gly Ala Trp Tyr Ser Tyr Gln Gly Ser Lys Ile Gly																					297
GTC GAG AAG TCC GGC GCC TGG TAC AGC TAC CAG GGC AGC AAG ATC GGC																					1037
Gln Gly Lys Ala Asn Ala Ala Lys Tyr Leu Glu Asp Asn Pro Glu Ile																					313
CAG GGC AAG GCG AAC GCC GCC AAG TAC CTG GAA GAC AAT CCG GAG ATC																					1085
Gly Ser Val Leu Glu Lys Thr Ile Arg Asp Gln Leu Leu Ala Lys Ser																					329
GGT TCG GTG CTG GAG AAG ACC ATC CGC GAC CAG CTG CTG GCC AAG AGC																					1133
Gly Pro Val Lys Ala Asp Ala Glu Glu Val Ala Asp Ala Glu Ala Asp																					345
GCT CCG CTG AAG GCC GAC GCC GAA GAA GTG GCT GAC GCC GAA GCC GAT																					1181

\*\*\* TGA GGCCAATGGCGATCGTGCTCGA....

1206

Рис. 1. Полная нуклеотидная последовательность гена *recA* *P. aeruginosa*, определенная по методу Максама — Гилберта, и выведенная из нее последовательность белка *recA*. Чертой над структурой отмечены участки —10 и —35 промотора

Однако, несмотря на успехи в изучении *recA*-подобных генов у различных организмов, к настоящему времени первичная структура изучена только для гена *recA* *E. coli*. С целью более полного понимания степени эволюционной консервативности генов *recA*, особенностей их экспрессии и изучения молекулярной основы исключительной полифункциональности белка *recA* мы изучили первичную структуру генов *recA* у ряда граммотрицательных микроорганизмов.

В данной статье представлены результаты анализа структуры гена *recA* из *Pseudomonas aeruginosa*. Этот ген был первоначально клонирован в сайт *Hind*III плазмиды pBR322 в составе фрагмента ДНК длиной 6,6 т.п.о. (плаزمиды pPA5). Далее, отдельные части этого фрагмента были субклонированы в плазмиде pUC18 и проверены на способность комплекментировать репарационный и рекомбинационный дефекты мутации *recA* в клетках *E. coli* [11].

Как видно из нуклеотидной последовательности гена *recA* *P. aeruginosa* (рис. 1), на расстоянии 5 нуклеотидов от иницирующего кодона АТГ

Кодон	Амино-кислота	P. a.		Кодон	Амино-кислота	P. a.		Кодон	Амино-кислота	E. c.		Кодон	Амино-кислота	E. c.	
		P. a.	E. c.			P. a.	E. c.			P. a.	E. c.				
TTT	Phe	0	4	TCT	Ser	0	6	TGT	Cys	1	2	TAT	Tyr	1	0
TTC	Phe	7	26	TCC	Ser	9	6	TGC	Cys	1	1	TAC	Tyr	7	7
TTA	Leu	0	0	TCA	Ser	0	2	TGA	***	1	0	TAA	***	0	1
TTG	Leu	1	2	TCC	Ser	4	1	TGG	Trp	1	2	TAG	***	0	0
CTT	Leu	0	3	CCT	Pro	0	0	CGT	Arg	3	12	CAT	His	1	0
CTC	Leu	4	2	CCC	Pro	3	0	CGC	Arg	12	2	CAG	His	2	2
CTA	Leu	0	0	CCA	Pro	0	1	CGA	Arg	0	0	CAA	Gln	2	1
CTG	Leu	24	24	CCG	Pro	8	9	CGG	Arg	1	2	CAG	Gln	14	12
ATT	Ile	0	2	ACT	Thr	0	3	AGT	Ser	0	0	AAT	Asn	2	1
ATC	Ile	26	25	ACC	Thr	15	9	AGC	Ser	4	5	AAC	Asn	10	14
ATA	Ile	0	0	ACA	Thr	0	0	AGA	Arg	0	0	AAA	Lys	2	21
ATN	Met	7	9	ACG	Thr	0	5	AGG	Arg	0	0	AAG	Lys	22	6
GTT	Val	1	4	GCT	Ala	2	4	GGT	Gly	5	17	GAT	Asp	2	9
GTC	Val	14	3	GCC	Ala	25	4	GGC	Gly	32	16	GAC	Asp	19	11
GTA	Val	1	5	GCA	Ala	2	11	GGA	Gly	1	1	GAA	Glu	11	21
GTG	Val	13	10	GCG	Ala	9	19	GGG	Gly	0	1	GAG	Glu	14	9

имеется консенсус-последовательность AGGA, комплементарная 3'-концам 16S РНК как *E. coli*, так и *P. aeruginosa*.

Показанная рамка считывания соответствует белку, содержащему 345 аминокислот (без учета формилметионина) и имеющему довольно высокую степень гомологии с белком *recA* из *E. coli*.

Как показано в таблице, использование кодонов в гене *recA P. aeruginosa* необычно и значительно отличается от использования кодонов у *E. coli*, так как в этом случае третьей буквой кодона часто является G или C (89,6%). Подобное использование кодонов уже отмечалось у четырех других секвенированных генов *Pseudomonas* [12, 13]. Высокое содержание G и C в варибельной части кодона отражает высокое (G + C)-содержание ДНК *Pseudomonas* (67,2%) и может служить одной из причин относительно слабой экспрессии генов *Pseudomonas* в клетках *E. coli* [13].

Характерной чертой гена *recA* и других генов, принимающих участие в SOS-ответе, является наличие 16-нуклеотидной консенсус-последовательности CTG-N<sub>10</sub>-CAG [14], которая служит участком связывания белка *lexA*. Подобная последовательность присутствует и в гене *recA P. aeruginosa* (нуклеотиды 84—100), что свидетельствует о значительной консервативности механизма SOS-ответа в процессе эволюции. В то же время расположение участка связывания белка *lexA* варибельно относительно промотора у различных генов, принимающих участие в SOS-ответе, что может быть одной из причин разного уровня их экспрессии в условиях SOS [14].

С целью идентификации промотора гена *recA* были проведены эксперименты по локализации сайта инициации транскрипции с помощью нуклеазы S1 [15] и обратной транскриптазы [16]. После индукции SOS-функций клетки с помощью налидиксовой кислоты тотальную РНК выделяли из клеток *P. aeruginosa* или *E. coli recA<sup>-</sup>*, содержащих плазмиду рРА5. Для РНК-ДНК-гибридизации использовали *BglII/SmaI*- (332 п.о.) и *BglII/HhaI*-фрагменты ДНК (92 п.о.), меченные <sup>32</sup>P по *BglII*-сайту с помощью полинуклеотидкиназы. Оба метода картирования дали совпадающие результаты и позволили однозначно установить, что как в клетках *E. coli*, так и в *P. aeruginosa* инициация транскрипции начинается с нуклеотидов T89 и A90. В области, предшествующей сайту инициации транскрипции, находится последовательность AATAATA, довольно сходная с консенсус-последовательностью TATAATA области —10 промоторов *E. coli* (рис. 2). В то же время область —35 не показывает явной го-

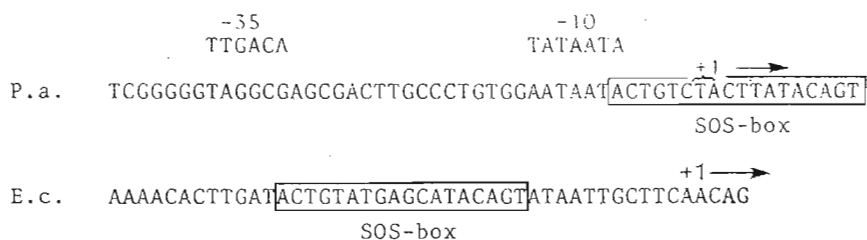


Рис. 2. Сравнение нуклеотидных последовательностей промоторно-операторной области генов *recA* *P. aeruginosa* и *E. coli*. В прямоугольники заключены участки связывания репрессора *lex* A. Начало транскрипции показано стрелкой. Над структурой приведен консенсус структуры промотора *E. coli*

мологии с соответствующей областью *E. coli*. Исследование промоторных областей других изученных генов *P. aeruginosa* выявляет большие вариации в их структуре по сравнению с промоторами генов *E. coli*. По-видимому, неэффективность транскрипции составляет одну из главных причин плохой экспрессии генов *P. aeruginosa* в *E. coli* (обычно 0,3–5% от уровня их экспрессии в гомологичных клетках [17]).

Как видно из сравнения промоторно-операторных последовательностей генов *recA* *E. coli* и *P. aeruginosa* (рис. 2), положение участка связывания репрессора у этих генов существенно различается. Если у гена *recA* *E. coli* репрессор связывается между областями –10 и –35 промотора, то у гена *P. aeruginosa* он блокирует сайт инициации транскрипции. Функциональные последствия этого различия требуют отдельного исследования. Тем не менее можно считать установленным, что у генов *recA* из различных микроорганизмов операторная последовательность располагается относительно промотора не строго консервативно.

Значительный интерес представляет сравнение аминокислотных последовательностей белков *recA* *E. coli* и *P. aeruginosa* (рис. 3). Структуры этих двух белков различаются в 108 позициях (70% гомологии), причем *recA*-белок *P. aeruginosa* короче на 7 аминокислот.

Наибольшая негомология наблюдается в С-концевой последовательности белка. Это заставляет предположить, что структура С-концевой части белка несущественна для его способности выполнять рекомбинационную и репарационную функции в клетке. Такое предположение подкрепляется данными по клонированию *PvuII*-фрагмента плазмиды pPA5, содержащего усеченный на 21 кодон с 3'-конца (рис. 1) ген *recA*<sub>PA</sub>, в *HindIII*- или *SmaI*-сайты полилинкера плазмиды pUC19 в обеих ориентациях. При этом открытая рамка считывания гена *recA*<sub>PA</sub> терминируется соответствующими стоп-кодонами ДНК плазмиды pUC19, что приводит к образованию четырех гибридных *recA*<sub>PA</sub>\*-белков, существенно различающихся по структуре С-конца и имеющих длину от 338 до 378 аминокислотных остатков. Клонирование того же *PvuII*-фрагмента в *ClaI*-сайт плазмиды pBR322 в ориентации, при которой направления транскрипции гена *recA*<sub>PA</sub> и гена устойчивости к тетрациклину совпадают, приводит к добавлению на С-конец белка только одной аминокислоты — аргинина, и образованию гибридного *recA*<sub>PA</sub>\*-белка длиной 325 аминокислотных остатков. При этом все полученные гибридные *recA*-белки обладают функциональной активностью *in vivo*. Эти результаты хорошо согласуются с данными Говард-Фландерса [18] по изучению активностей *in vitro* протеолитического фрагмента *recA*-белка из *P. mirabilis*, потерявшего 8% аминокислотных остатков с С-конца.

Другая, менее протяженная область негомологии находится в N-концевой части белка *recA*<sub>PA</sub>, в районе мутации *recA* 1211 по 38-й аминокислоте у белка *recA*<sub>EC</sub>. Эта мутация, представляющая функциональный интерес, выражается в фенотипически конститутивной SOS-функции. Показано также, что подобный фенотип вызывается мутациями по аминокислотам 25, 158, 179 [19], отмеченными на рис. 3. Как можно видеть, в трех случаях из четырех в этих позициях наблюдаются различия между двумя сравниваемыми белками.

	1	10	20	30	40	50
P.a.	..DENKKRALAAALGQIERQFGKGVMMCDHERQAIPAISTGSLGLDIALG					
E.c.	AI	QR	K	SI L	EDRSM	VET S
				*	G	K
				recA629c	recA1211	
		60	70	80	90	100
P.a.	IGGLPKGRIVEIYGPESSGKTTLLSVIAEAEQKQGATCAFVDAEHALDPD					
E.c.	A	M		Q	A	RE K I I
		110	120	130	140	150
P.a.	YAGKLGVNVDLLVSQPDTGEQALEITDMLVRSNAVDVIVDSVAALVPK					
E.c.	R	DI N C		C A A G	V	T
		cys114	V			
			recA718b			
		160	170	180	190	200
P.a.	AEIEGEMGDAHVGLQARLMSQALRKITGNIKNANCLVIFINQIRMKIGVM					
E.c.		I S M A M	M	LA	L QS T L	
		* D		*		
		recA1				
		210	220	230	240	250
P.a.	FGNPETTTGGNALKFYASVRLDIRRTGAVKEGDEVVVGSETRVKVVKNKVS					
E.c.				I	EN	IA
	S					M
	recA430					recA44
		260	270	280	290	300
P.a.	PPFRQAEFQILYKGIYRTGEIIDLGVQLGLVEKSGAWYSYQGSKIGQ GK					
E.c.	A K	E	NFY LV	KEK I A	K E	
						V
						recA441b
		310	320	330	340	
P.a.	ANAAKYLEDNPEIGSVLEKTIRDQLLAKSGPVKADAEVADAEAD					
E.c.	TAW K	TAKEI	KV EL	SNPNSTPDFSVDDSEGV	ETNEDE	

Рис. 3. Сравнение аминокислотных последовательностей белков *recA* *P. aeruginosa* и *E. coli*. Под структурой отмечены участки некоторых мутаций. Звездочкой отмечены аминокислоты, мутации по которым приводят к фенотипу *recA* 441. Чертой под структурой указан участок связывания АТР. Стрелка показывает участок расщепления гена рестриктазой *PvuII*

Кроме того, у белка из *P. aeruginosa* отсутствует аминокислота Cys-14, модификация которой у белка из *E. coli* N-(7-диметиламино-4-метилкумаририл)малеимидом [20] приводила к утере им АТР-азной активности. В то же время участок взаимодействия с белком *lexA* (район мутации *recA*<sub>430</sub>) и участок связывания адениновых нуклеотидов [21] расположены в областях наиболее протяженной гомологии.

Очевидно, что необходимо детальное биохимическое и генетическое изучение особенностей белка *recA* из *P. aeruginosa*, чтобы соотнести наблюдаемые различия в структурах сравниваемых белков с возможными различиями в их свойствах. Мы надеемся, что наличие клонированного гена и знание его структуры значительно облегчит эту задачу и будет полезным при анализе детальной структуры его функциональных доменов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Radding C. M. // Ann. Rev. Genet. 1982. V. 16. № 1. P. 405—437.
2. Little J. W., Mount D. W. // Cell. 1982. V. 29. № 1. P. 11—22.
3. Walker G. C. // Microbiol. Rev. 1984. V. 48. № 1. P. 60—93.
4. Ланцов В. А. // Генетика. 1985. Т. 21. № 9. С. 1413—1427.
5. Eitner G., Solonin A. S., Tanyashin V. I. // Gene. 1981. V. 14. № 2. P. 301—308.
6. Better M., Helinsky D. R. // J. Bacteriol. 1983. V. 155. № 1. P. 311—316.
7. Keener S. L., McNamee K. P., McEntee K. // J. Bacteriol. 1984. V. 160. № 1. P. 153—160.
8. Lovett C. M., Roberts J. W. // J. Biol. Chem. 1985. V. 260. № 1. P. 867—872.
9. Angulo J. F., Schwencke J., Moreau P. L., Moustacchi E., Devoret R. // Mol. Gen. Genet. 1985. V. 201. № 1. P. 20—24.
10. Kmiec E. // Cell. 1984. V. 36. № 4. P. 593—598.
11. Зайцев Е. Н., Зайцева Е. М., Бахланова И. В., Горелов В. Н., Кузьмин Н. П., Крюков В. М., Ланцов В. А. // Генетика. 1986. Т. 22. № 11. С. 2721—2726.
12. Minton N. P., Atkinson T., Bruton C. J., Sherwood R. F. // Gene. 1984. V. 31. № 1. P. 31—38.
13. Pritchard A. E., Vasil M. L. // J. Bacteriol. 1986. V. 167. № 1. P. 291—298.
14. Wertman K. F., Mount D. W. // J. Bacteriol. 1985. V. 163. № 1. P. 376—384.
15. Ebina Y., Nakazawa A. // J. Biol. Chem. 1983. V. 258. № 11. P. 7072—7078.
16. Debarbonille M., Raiband O. // J. Bacteriol. 1983. V. 153. № 3. P. 1221—1227.
17. Jeenes D. J., Soldati L., Baur H., Watson J. H., Hercenier A., Reiman C., Leisinger T., Haas D. // Mol. Gen. Genet. 1986. V. 203. № 3. P. 421—429.
18. Rusche J. R., Konigsberg W., Howard-Flanders P. // J. Biol. Chem. 1985. V. 260. № 2. P. 949—955.
19. Wang W., Tessman E. S. // J. Bacteriol. 1985. V. 163. № 1. P. 407—409.
20. Kuramitsu S., Yamaguchi K., Tachibana H., Horri T., Ogawa H., Ogawa T. // Biochemistry. 1984. V. 23. № 12. P. 2363—2371.
21. Finch P. W., Emmerson P. T. // Nucl. Acids Res. 1984. V. 9. № 14. P. 5789—5799.

Поступила в редакцию  
9.11.1988  
После доработки  
20.V.1990

V. M. KRYUKOV, E. N. ZAITSEV\*, N. P. KOUZMIN, A. A. BAYEV

STRUCTURE OF THE *recA* GENE FROM *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

*Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Pushchino, Moscow Region:*  
\* *B. P. Konstantinov Leningrad Institute of Nuclear Physics, Academy of Sciences of the USSR, Gatchina*

The nucleotide sequence of the 1206 bp fragment of *Pseudomonas aeruginosa* DNA coding for the *recA* gene has been determined. This structure was shown to contain an open reading frame corresponding to a protein with m.w. 36808 D highly homologous (70%) to the *Escherichia coli* *recA* protein. Homology on the DNA level is significantly lower (57%) due to the high G/C content characteristics of *Pseudomonas* DNA. Making use of S1 nuclease and reverse transcriptase it was shown that in *P. aeruginosa* and *E. coli* cells *recA*<sub>PA</sub> gene transcription starts from A or T unit. Unlike «-35» region, «-10» region is homologous to the consensus *E. coli* promoter sequence. Comparison of primary structures of the *recA*<sub>PA</sub> and *recA*<sub>EC</sub> proteins demonstrates that the *recA*<sub>PA</sub> protein is by 7 amino acid residues shorter and differs from *recA*<sub>EC</sub> at 108 positions. Homology is the lowest in the C-terminal part. Basing on the analysis of hybrid *recA*<sub>PA</sub> proteins with a modified C-terminal part, it may be suggested that C-terminus is nonessential for main activities of the *recA* protein.