



УДК 577.217.343'112: 582.282.23

## МОЛЕКУЛЯРНОЕ КЛОНИРОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ КОМПОНЕНТОВ АППАРАТА ТРАНСЛЯЦИИ ДЕЛЯЩИХСЯ ДРОЖЖЕЙ *Schizosaccharomyces pombe* И ПЕРВЫЙ УНИФИЦИРОВАННЫЙ СПИСОК ГЕНОВ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ РИБОСОМНЫХ БЕЛКОВ ЭТОГО МИКРООРГАНИЗМА

© 1999 г. Г. В. Шпаковский, Г. М. Баранова, В. Вуд\*, Р. Г. Гвильям\*,  
Е. К. Шематорова, О. Л. Корольчук, Е. Н. Лебеденко<sup>#</sup>

Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,  
117871, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10;

\* Сэнгеровский Центр, Хинкстон, Кембридж CB10 1SA, Великобритания

Поступила в редакцию 10.12.98 г. Принята к печати 23.02.99 г.

В процессе анализа генома делящихся дрожжей *Schizosaccharomyces pombe* выделены и секвенированы полноразмерные кДНК четырех новых генов, кодирующих цитоплазматические рибосомные белки L14 и L20 (большая субчастица рибосомы) и S1 и S27 (малая субчастица). Клонирован также один из генов *Sz. pombe*, кодирующих фактор элонгации трансляции EF-2, и установлено его положение на хромосоме I. Предложена обобщающая номенклатура и составлен список всех идентифицированных к настоящему времени генетических детерминант, кодирующих цитоплазматические рибосомные белки *Sz. pombe*. На данный момент в геноме делящихся дрожжей обнаружено 76 генов/кДНК, кодирующих различные рибосомные белки, из них дублированы 35 генов, а в случае белков L2, L16, P1 и P2 идентифицировано по три гомолога.

*Ключевые слова:* дрожжи *Schizosaccharomyces pombe*, анализ генома, список и обобщающая номенклатура цитоплазматических рибосомных белков; кДНК и гены белков L14 (*rpl14*), L20 (*rpl20*), S1 (*rps1*) и S27 (*rps27*); фактор элонгации трансляции EF-2 (ген *efl2a*); гибридизация на космидных фильтрах.

Бурное развитие геномики как микроорганизмов, так и высших эукариот, привело к возможности рассмотрения важнейших молекулярно-биологических процессов (репликация ДНК, транскрипция, трансляция, генетическая рекомбинация) на уровне целого генома. В результате для некоторых модельных организмов становится возможным систематизировать все компоненты (белки и гены), участвующие в том или ином процессе. Например, в случае аппарата синтеза белка такая полная информация имеется для 70S-рибосомы *Escherichia coli*. Этот рибонуклеопротеидный комплекс имеет молекулярную массу 2.3 МДа и состоит из двух субчастиц: большая 50S-субчастица включает в себя 23S-рРНК, 5S-рРНК и 34 L-белка; малая 30S-субчастица содержит 16S-рРНК и 21 S-белок. Для 15 рибосомных белков бактерий к настоящему времени с помощью рентгеноструктурного анализа и спектроскопии ЯМР установлены пространственные структуры [1].

Несмотря на то, что исследования рибосомных белков дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* были на-

чаты в 1974 г. [2], а в 1996 г. было завершено определение полной первичной структуры всего генома *S. cerevisiae* [3, 4], только недавно выявлены все 137 генов, кодирующих цитоплазматические рибосомные белки этих дрожжей, а также предложена их обобщающая классификация [5, 6]. Дрожжевая рибосома (коэффициент седиментации 80S), пространственная структура которой с разрешением 35 Å недавно установлена с помощью криоэлектронной микроскопии [7], состоит из двух рибонуклеопротеидных субчастиц. В состав большой 60S-субчастицы входят три молекулы РНК: 25S-РНК (3392 нт), связанная водородными связями с 5.8S-РНК (158 нт) и ассоциированная с 5S-РНК (121 нт), а также 43 рибосомных белка (L1-L43) и три кислых легкодиссоциирующих Р-белка (P0, P1 и P2), два из которых (P1 и P2) представлены в двух копиях. Малая 40S-субчастица содержит одну молекулу РНК (1798 нт) и 32 белка (S0-S31). Содержание РНК и белка составляет соответственно 59 и 41% для большой субчастицы и 54 и 46% – для малой [6, 7]. Предполагается, что геном *S. cerevisiae* несет 78 различных генов, ответственных за синтез белков рибосомы, причем 59 из этих генов (т.е. 75.6%) дублированы.

<sup>#</sup> Автор для переписки (тел.: (095) 330-65-83; e-mail: el@ibch.siobc.ras.ru; факс: (095) 335-71-03).

Близка к завершению работа по характеристике всех рибосомных белков млекопитающих (с помощью микросеквенирования белков рибосом крысы, разделенных двумерным электрофорезом) ([8]; I.G. Wool, Чикагский университет, США; неопубликованные данные). Рибосома млекопитающих характеризуется гораздо большим размером 28S-РНК большой субчастицы (более 5000 нт против 3400 в 25S-РНК грибов и высших растений). Другим отличительным свойством рибосом высших эукариот является наличие рибосомного белка L28 (по номенклатуре [8]), гомологи которого не обнаружены в протеоме дрожжей *S. cerevisiae* [3–6]. Делящиеся дрожжи *Schizosaccharomyces pombe*, представляющие собой рано отделившуюся ветвь аскомицетов (класс Archiascomycetes), эволюционно далеки как от млекопитающих, так и от почкующихся дрожжей *S. cerevisiae* [9, 10]. Поэтому характеристика компонентов аппарата трансляции этого организма представляет существенный интерес. Недавно японскими авторами осуществлено исчерпывающее клонирование генов всех факторов элонгации трансляции *Sz. pombe* [11]. В этой работе было охарактеризовано три гена, кодирующих фактор элонгации EF-1 $\alpha$ ; два гена, кодирующих EF-2; и по одному гену, ответственному за синтез EF-1 $\beta$  и EF-1 $\gamma$ . Целый ряд генов, предположительно кодирующих белки рибосом *Sz. pombe*, обнаружен в процессе крупномасштабного секвенирования генома этих дрожжей в Сэнгеровском Центре, Великобритания (Sanger Centre; <http://www.sanger.ac.uk>). Вместе с тем экспрессия этих генов в дрожжевой клетке может быть доказана только путем обнаружения соответствующих транскриптов. В процессе анализа геномной и кДНК-клеток *Sz. pombe* с целью поиска компонентов аппарата транскрипции мы обнаружили ряд генетических детерминант (кДНК и генов), отвечающих за синтез некоторых рибосомных белков и факторов трансляции делящихся дрожжей. Известно, что около 20–25% клонов кДНК-клеток содержат последовательности, кодирующие компоненты аппарата трансляции, поэтому их обнаружение в качестве побочных продуктов просеивания клонов с использованием вырожденных праймеров или в процессе супрессорного анализа в дрожжах не вызывает удивления.

Генетические детерминанты (кДНК), кодирующие рибосомные белки *Sz. pombe* L20 и S27, были выделены при просеивании представительной кДНК-клетки делящихся дрожжей [12] в процессе поиска соответственно генов *rpb8*<sup>+</sup> (продукт ПЦР, полученный с помощью вырожденных праймеров [13]) и *rpl1*<sup>+</sup> (в виде слитой кДНК *rpl1-rps27* [14]). Полноразмерная кДНК, отвечающая за синтез рибосомного белка L14, была обнаружена при супрессорном анализе термочувствительного штамма *S. cerevisiae* WY-9, несущего делеционный ноль-аллель гена *RPB9* (одна из

плазмид кДНК-клетки *Sz. pombe* в штамме *S. cerevisiae* с восстановленным фенотипом). Установленные первичные структуры выделенных нами полноразмерных кДНК и сравнение соответствующих белковых последовательностей представлены на рис. 1–3.

Белок большой субчастицы рибосомы L20 кодируется в геноме *Sz. pombe* двумя безынтронными генами, локализованными в разных местах хромосомы I (космиды с26A3 и с3A12; см. таблицу). Детальное сравнение нуклеотидных последовательностей изолированной нами кДНК (рис. 1a) и двух генов, кодирующих белок с одинаковой аминокислотной последовательностью, показало, что кДНК соответствует гену из космиды с26A3. Поскольку пока только для этого гена доказано, что он транскрибируется, мы обозначили его как *rpl20-1*. Гомологи рибосомного белка L20 обнаружены только у эукариот и отсутствуют у прокариот и архей (см. список семейств рибосомных белков: <http://www.expasy.ch/cgi-bin/lists?ribosomp.txt>), причем первичная структура этого белка у разных видов эукариот достаточно вариабельна (рис. 1б).

Последовательность другой клонированной нами кДНК (рис. 2a) точно соответствует кодирующей последовательности гена *rps27* из космиды с1685 (данные Сэнгеровского Центра, SPBC1685), картированной на хромосоме II. Ген *rps27-1* содержит два интрона длиной 38 и 204 п.о., первый из которых разделяет 2-й и 3-й кодоны (Val и Leu), а второй – 33-й и 34-й кодоны (Met и Asp); оба интрона имеют характерные 5'-донорный (GTAAG) и 3'-акцепторный (TAG) участки сплайсинга. Недавно японскими авторами депонирована другая неполная кДНК (GenBank AB015171, см. таблицу), кодирующая, возможно, изоформу рибосомного белка S27. Обсуждаемые последовательности кДНК имеют два различия как в нуклеотидной (TTCTTC  $\rightarrow$  TTAcTC), так и в аминокислотной (PhePhe  $\rightarrow$  LeuLeu) последовательностях (рис. 2a и 2б). Белок S27, входящий в состав малой 40S-субчастицы, высоко консервативен в эволюции (см. рис. 2б) и обнаружен помимо эукариот также у представителей надцарства Archaea (<http://www.expasy.ch/cgi-bin/lists?ribosomp.txt>). У *S. cerevisiae* этот белок кодируется двумя генами (хромосомы XI и VIII) и представлен двумя изоформами: S27A и S27B [5, 6].

Белок L14, входящий в состав большой 60S-субчастицы рибосомы эукариот, обнаружен также у всех видов архей. Этот белок имеет структурное сходство с другим рибосомным белком, L27, характерным только для эукариот. У *S. cerevisiae* белок L14 кодируется двумя генами (хромосомы XI и VIII) и представлен двумя изоформами: L14A и L14B [5, 6]. Выделенная нами кДНК (рис. 3a) соответствует последовательности, кодирующей гомолог L14A. Ген(ы) *rpl14 Sz. pombe* до сих пор не клонированы. В GenBank депонирована еще одна последовательность кДНК *rpl14*

L20

(a)

gcaaagtgaactttttacgaacaacaccaattggggaaa ATG GCA CTC AAG GAG TAT CAA GTC GTT 66  
Met Ala Leu Lys Glu Tyr Gln Val Val [9]

GGA CGC AAG GTT CCT ACG GAA CAT GAG CCT GTT CCC AAG CTA TTC CGT ATG CGT TTG 123  
Gly Arg Lys Val Pro Thr Glu His Glu Pro Val Pro Lys Leu Phe Arg Met Arg Leu [28]

TTC GCA CCT AAT GAA TCT GTT GCC AAG TCT CGT TAT TGG TAC TTC TTG AAG ATG ATC 180  
Phe Ala Pro Asn Glu Ser Val Ala Lys Ser Arg Tyr Trp Tyr Phe Leu Lys Met Ile [47]

AAC AAA GTC AAG AAG GCC ACT GGT GAG ATC GTT GCC ATC AAT GAG ATT TCC GAG CCT 237  
Asn Lys Val Lys Lys Ala Thr Gly Glu Ile Val Ala Ile Asn Glu Ile Ser Glu Pro [66]

AAG CCG TTG AAG GCC AAG GTC TTC GGT ATC TGG ATT CGT TAT GAC TCT CGC TCT GGT 294  
Lys Pro Leu Lys Ala Lys Val Phe Gly Ile Trp Ile Arg Tyr Asp Ser Arg Ser Gly [85]

ACC CAC AAC ATG TAC AAG GAG TTC CGT GAC ACT ACT CGT GTT GGT GCC GTT GAG GCT 351  
Thr His Asn Met Tyr Lys Glu Phe Arg Asp Thr Thr Arg Val Gly Ala Val Glu Ala [104]

ATG TAT GCC GAT ATG GCT GCC CGT CAT CGT GCT CGT TTC CGC AGC ATC CGT ATC CTT 408  
Met Tyr Ala Asp Met Ala Ala Arg His Arg Ala Arg Phe Arg Ser Ile Arg Ile Leu [123]

AAG GTT GTT GAG GTT GAG AAG AAG GAG GAC GTT CGC CGT AAC TAT GTC AAG CAA CTC 465  
Lys Val Val Glu Val Glu Lys Lys Glu Asp Val Arg Arg Asn Tyr Val Lys Gln Leu [142]

CTT AAC CCT CAC TTG AAA TTC CCT CTC CCT CAC AGA CGT ACT GGT GTT GTC GGT TTG 522  
Leu Asn Pro His Leu Lys Phe Pro Leu Pro His Arg Arg Thr Gly Val Val Gly Leu [161]

GCT GGC AAG AAG GTC TTT GCT CCT CAC CGT CCC AGT ACT TTT TAC TAA gtatttatggt 581  
Ala Gly Lys Lys Val Phe Ala Pro His Arg Pro Ser Thr Phe Tyr stop [176]

tgccatatgtagtagtacacggtttgtgtttcataaaatacattacttctttttattttcagcgtagcaaatcatc 656  
atagtgaagtgagacatgaggcgatgaagcaatagttaaccctatagttgtaaattaacc 718

(б)

*S. cer.* 1 MYLAHF-----I--RL---SV-E-----I--S--VI-----QKLH-----S--- 60  
***Sz. pombe*** 1 **MALKEYQVVGGRKVPTEHEPVEPKLFRMRLFAPNESVAKSRYWYFLKMINKVKKATGEI** 57  
*R. norv.* 1 MKASGT-R--K---CL--PKCHT-P-Y---I---HV-----F---VSQLK-M--SS--- 61  
*H. sap.* 1 MKASGT-R--K---CL--PKCHT-P-Y---I---HV-----F---VSQLK-M--SS--- 61  
*S. sal.* 1 MKASGT-R--K---LL-SVKN-T-P-Y---I---HV-----F---VSQLR-M---N-T- 61  
*D. mel.* 1 MRAKGL---E---L-S-K--QTP-YK--I---DNI-----F---RQLK-F--T--- 61

*S. cer.* 61 -S-Q-N-AH-T-V-N--V-V-----I--VS--A---TL-Q----- 120  
***Sz. pombe*** 58 **VAINIIEPKPLKAKVFGIWIYDSRSGTHNMYKEFRDTRVGAVEAMYADMAARHRARF** 117  
*R. norv.* 62 -YCGQVF-KS--RV-N---L-----R-Y--L-TA---TQC-R-G-----A 121  
*H. sap.* 62 -YCGQVF-KS--RV-N---L-----R-Y--L-TA---TQC-R-G-----A 121  
*S. sal.* 62 -YCGLVH-KT---V-N--V-L-N-----R-Y--L-TSA---TQC-R-G-----A 121  
*D. mel.* 62 -S-KQVY-TS-V-I-N---L-----R-Y--L-VG---TQC-R-G-----A 121

*S. cer.* 121 ---H---A-I--TA--K-Q---F-TKD-----,,,,VQKST-T-SYK----- 174  
***Sz. pombe*** 118 **RSIRILKVVEVEKEDVRRNYVKQLLNPHLKFPLPHRRRTGVVGLAGKKVFAPHRPSTFY** 176  
*R. norv.* 122 H--Q-M--E-I, AAGKC--PA---FHDSKI-----,,,-LRRQH-PR-TTK--N--F 176  
*H. sap.* 122 H--Q-M--E-I, AASKC--PA---FHDSKI-----,,,-LRRQH-PR-TTK--N--F 176  
*S. sal.* 122 H--H-M--Q-I, AANKC--PAI--FHDSKI-----,,,-LRRQHNPR-TTK--N--F 176  
*D. mel.* 122 H--Q-I--DSI, PAAKT--VH---FHDSKI---VQ-,,,-HHKGNR-L-SFRK-R-YFQ 177

Рис. 1. Нуклеотидная последовательность κДНК гена рибосомного белка L20A *Sz. pombe* (a) и сравнение этого белка с ортологами из других организмов (б); в скобках приведены номера депонирования в GenBank/EMBL: *S. cerevisiae* (Z75220), *Rattus norvegicus* (X14181), *Homo sapiens* (L05093), *Salmo salar* (AF045188) и *Drosophila melanogaster* (X75339). Знаком "тире" заменены аминокислотные остатки, совпадающие с соответствующим остатком в рибосомном белке *Sz. pombe*; жирным шрифтом выделены гомологичные аминокислотные остатки; запятыми обозначены пробелы, введенные для выравнивания последовательностей.

S27

(a)

.tg gca gtt gat ctc tta aat ccc agt cat gaa tcc gag atg 41  
 [3] Ala Val Asp Leu Leu Asn Pro Ser His Glu Ser Glu Met [16]

cgc aag cac aag ctg aag cag ctt gtt caa ggc cct cgc agt 83  
 Arg Lys His Lys Leu Lys Gln Leu Val Gln Gly Pro Arg Ser [30]

(a c)

ttc ttc atg gat gtc aag tgc cct gga tgc ttc aac atc acc 125  
 Phe Phe Met Asp Val Lys Cys Pro Gly Cys Phe Asn Ile Thr [44]  
 (Leu Leu)

aca gtt ttc tct cat gct caa acc gtt gtt att tgc ggt tct 167  
 Thr Val Phe Ser His Ala Gln Thr Val Val Ile Cys Gly Ser [58]

tgt gcc tct gtc ctt tgc caa cct act ggt ggt aag gct cgt 219  
 Cys Ala Ser Val Leu Cys Gln Pro Thr Gly Gly Lys Ala Arg [72]

ctt atg gag gga tgc tct ttc aga aga aag aac taa aaggtct 262  
 Leu Met Glu Gly Cys Ser Phe Arg Arg Lys Asn stop [83]

tggtcatatcttgcatgtcttgattattgaataaaattttggttctaggcatgtgg 317

(б)

|                         |          |   |           |
|-------------------------|----------|---|-----------|
| <i>S. cerevisiae</i>    | 1        | ---VQ---H-TAA--A-----T-----Y-L-----L-----             | 45        |
| <b><i>Sz. pombe</i></b> | <b>1</b> | <b>MVLAVDLLNPSHESEMRRKHLKQLVQGPRSEFFMDVKCPGCFNITT</b> | <b>45</b> |
| <i>R. norvegicus</i>    | 1        | -P--R---H--L-E-KK---K-R---S-N-Y-----YK---             | 45        |
| <i>H. sapiens</i>       | 1        | -P--K---H--P-E-K---K-R---S-N-Y-----YK---              | 45        |
| <i>X. laevis</i>        | 1        | -P--K---H-TP-E-K---K-R---S-N-Y-----YK---              | 45        |

|                         |           |   |           |
|-------------------------|-----------|---|-----------|
| <i>S. cerevisiae</i>    | 46        | -----A-T-E--ST---T-----K-S--T-----            | 82        |
| <b><i>Sz. pombe</i></b> | <b>46</b> | <b>VFSHAQTVVICGSCASVLCQPTGGKARLMEGCSFRRKN</b> | <b>83</b> |
| <i>R. norvegicus</i>    | 46        | -----L-VG-ST-----T-----QH                     | 84        |
| <i>H. sapiens</i>       | 46        | -----L-VG-ST-----T-----QH                     | 84        |
| <i>X. laevis</i>        | 46        | -----L-VG-ST-----T-----QH                     | 84        |

Рис. 2. Нуклеотидная последовательность кДНК гена рибосомного белка S27 *Sz. pombe* (a) и сравнение этого белка с ортологами из других организмов (б): *S. cerevisiae* (Z28156), *R. norvegicus* (X59375), *H. sapiens* (U57847), *Xenopus laevis* (X71350). В нуклеотидной последовательности подчеркнуты два звена, отличающиеся от соответствующих звеньев последовательности AB015171, которые приведены в скобках. Остальные обозначения такие же, как в подписи к рис. 1.

*Sz. pombe* (номер депонирования AJ002732), в которой имеется 4 расхождения с полноразмерной кДНК, изолированной нами, при этом рамка считывания смещается дважды и выведенная аминокислотная последовательность укорачивается на 30 а.о. Только установленная нами аминокислотная последовательность дает соответствие с гомологом из *S. cerevisiae* на всем своем протяжении (рис. 3б). Сравнение гомологов рибосомного белка L14 из разных организмов показывает, что от-

личительной особенностью этого белка у высших эукариот, особенно у млекопитающих, является наличие протяженной (35–80 а.о.) С-концевой последовательности, обогащенной остатками аланина и лизина (аргинина в случае дрозофилы). Можно предположить, что этот С-концевой участок контактирует с более длинной 28S-рРНК (см. выше).

Последовательность, кодирующая изоформу рибосомного белка S1 (рис. 4а), обнаружена нами в составе геномного клона рYUL23 с геном



S1

(a)

|   |   |      |
|---|---|------|
| gaaaccaaacttctccaca   | ATG GCA GTT GGA AAA AAC AAG AGA CTC TCC AAA GGC AAG | 58   |
|   | Met Ala Val Gly Lys Asn Lys Arg Leu Ser Lys Gly Lys | [13] |
| AAG GGA ATT AAG AAG CGT GTC GTT GAC CCC TTT TCC CGT AAG GAA TGG TAC GAC | 112   |      |
| Lys Gly Ile Lys Lys Arg Val Val Asp Pro Phe Ser Arg Lys Glu Trp Tyr Asp | [31]  |      |
| ATT AAA GCT CCC GCC TTC TTC GAA GTT AAG AAC GTT GGA AAG ACT CTT GTC AAC | 166   |      |
| Ile Lys Ala Pro Ala Phe Phe Glu Val Lys Asn Val Gly Lys Thr Leu Val Asn | [49]  |      |
| CGC ACA GCC GGT CTA AAG AAT GCC AAT GAC TCC CTC AAG GGA CGT ATC TTG GAG | 220   |      |
| Arg Thr Ala Gly Leu Lys Asn Ala Asn Asp Ser Leu Lys Gly Arg Ile Leu Glu | [67]  |      |
| GTT TCC CTT GCT GAC TTG CAA AAG GAT GAG GAG CAC GCA TTC CGC AAG GTT AAG | 274   |      |
| Val Ser Leu Ala Asd Leu Gln Lys Asp Glu Glu His Ala Phe Arg Lys Val Lys | [85]  |      |
| CTT CGT GTC GAA GAT ATC CAA GGC AAG TCT TGC CTT ACC AGC TTC AAT GGT TTA | 328   |      |
| Leu Arg Val Glu Asp Ile Gln Gly Lys Ser Cys Leu Thr Ser Phe Asn Gly Leu | [103]   |      |
| AGC ATC ACT TCT GAC AAG TTG CGC TCT CTT GTC CGC AAA TGG CAA ACA ACC ATC | 382   |      |
| Ser Ile Thr Ser Asp Lys Leu Arg Ser Leu Val Arg Lys Trp Gln Thr Thr Ile | [121]   |      |
| GAG GCT GAT CAA ACT ATC AAG ACT ACT GAT GGT TAT CTT TGC CGT GTC TTT GTC | 436   |      |
| Glu Ala Asp Gln Thr Ile Lys Thr Thr Asp Gly Tyr Leu Cys Arg Val Phe Val | [139]   |      |
| ATT GGC TTC ACA CGT CGT CGT GCT AAC CAA GTT AAG AAG ACT ACT TAT GCT CAA | 490   |      |
| Ile Gly Phe Thr Arg Arg Arg Ala Asn Gln Val Lys Lys Thr Thr Tyr Ala Gln | [157]   |      |
| TCT TCT CAA ATC CGT GCC ATC CGC CAG AAG ATG TTC CAA GTT ATC CAA AAC CAA | 544   |      |
| Ser Ser Gln Ile Arg Ala Ile Arg Gln Lys Met Phe Gln Val Ile Gln Asn Gln | [175]   |      |
| ACT TCT TCT TGC TCC ATG AGG GAA CTC GTT CAA AAG CTC ATT CCT GAG GTC ATT | 598   |      |
| Thr Ser Ser Cys Ser Met Arg Glu Leu Val Gln Lys Leu Ile Pro Glu Val Ile | [193]   |      |
| GGC CGT GAA ATT GAA AGA GCT ACT GGC AGT ATT TTC CCT CTC CAA AAT GTT CTT | 652   |      |
| Gly Arg Glu Ile Glu Arg Ala Thr Gly Ser Ile Phe Pro Leu Gln Asn Val Leu | [211]   |      |
| GTC CGT AAG GTC AAG ATC CTC AAG GCC CCT AAG CAT GAT GCT CAA AAG CTC CTC | 706   |      |
| Val Arg Lys Val Lys Ile Leu Lys Ala Pro Lys His Asp Ala Gln Lys Leu Leu | [229]   |      |
| GAG TTA CAT GGT GAG AGT CAA GAT GTT GGC ACA AAG GTT GTC AAG GAC GTT GCT | 760   |      |
| Glu Leu His Gly Glu Ser Gln Asp Val Gly Thr Lys Val Val Lys Asp Val Ala | [247]   |      |
| CCC TTG GAA TCT GTT TAA atgtccttgctgccatcgctcgtctccttcttcctttt          | 815   |      |
| Pro Leu Glu Ser Val Stop  | [252]   |      |

**Рис. 4.** Нуклеотидная последовательность гена рибосомного белка S1B *Sz. pombe* (a) и его сравнение с изоформой S1A и ортологами из других организмов (б): *S. cerevisiae* (U21094), *R. norvegicus* (X75161), *H. sapiens* (M77234), *Oryza sativa* (D26060), *Arabidopsis thaliana* (AJ001342). В аминокислотной последовательности белка S1B подчеркнуты звенья, отличающие его от изоформы S1A. Остальные обозначения такие же, как в подписи к рис. 1.

*rps19<sup>+</sup>*, отвечающим за синтез общей субъединицы ядерных РНК-полимераз I и III *Sz. pombe* [15]. Ген *rps1-2* является безынтронным, кодирует белок S1B из 252 а.о. и локализован на хромосоме I в составе космиды c22H12 (9067 п.о.), секвенирование которой недавно завершено в Сэнгеровском Центре (см. таблицу). Другой ген (*rps1-1*), кодиру-

ющий белок S1A (252 а.о.), также находится на хромосоме I (космида c13G7; данные Сэнгеровского Центра) (см. таблицу). Хотя длина белков S1A и S1B *Sz. pombe* одинакова, в аминокислотной последовательности имеются 22 отличия (рис. 4б). Гомологи белка S1 найдены только у представителей надцарств Archaea и Eucarya. Структурное сходст-

(б)

|                         |            |   |            |
|-------------------------|------------|---|------------|
| <i>S. cerevisiae</i>    | 1          | -----,---Q-----T---F-----ST--NR-----KST---S-S-A                       | 60         |
| <b><i>Sz. pombe</i></b> | <b>1</b>   | <b>MAVGKNKRLSKG, KKGIKKRVDPF SRKEWYDIKAPAFFEVKNVGTKLVNRTAGLKNANDS</b> | <b>60</b>  |
|                         | <b>1</b>   | -----,-----   | <b>60</b>  |
| <i>R. norvegicus</i>    | 1          | -----T--G--A--K-----K-D--V---M-NIR-I-----T--Q-T-I-S-G                 | 61         |
| <i>H. sapiens</i>       | 1          | -----T--G--A--K-----K-D--V---M-NIR-I-----T--Q-T-I-S-G                 | 61         |
| <i>O. sativa</i>        | 1          | -----,---S--KT---AK-D-----SV-N-R-I-----S--Q-T-I-SEG                   | 60         |
| <i>A. thaliana</i>      | 1          | -----,---G--KA-----K-D--V---GS-TNR-----S--Q-T-I-SEG                   | 60         |
| <br>                    |            |   |            |
| <i>S. cerevisiae</i>    | 61         | ---VV--C-----GS-D-S---I---DEV---NL--N-H-MDF-T-----M-----L             | 120        |
| <b><i>Sz. pombe</i></b> | <b>61</b>  | <b>LKGRILEVSLADLQKDEEHAFRKVKLRVEDIQGKSCLTSFNGLSITSDKLRSLVRKQTT</b>    | <b>120</b> |
|                         | <b>61</b>  | -----S-----FDM-----S  | <b>120</b> |
| <i>R. norvegicus</i>    | 62         | ---VF-----N--V,---F--IT--V--N--N-H-MDL-R--MC-M-K---M                  | 120        |
| <i>H. sapiens</i>       | 62         | ---VF-----N--V,---FKLIT--V--N--N-H-MDL-R--MC-M-K---M                  | 120        |
| <i>O. sativa</i>        | 61         | --H-VF-----N-EDQ-Y--IR--A--V--NV--N-W-M-F-T-----K---L                 | 120        |
| <i>A. thaliana</i>      | 61         | --H-VF-----N--DN-Y--IR--A--V--RNV--Q-W-MDF-T-----K---L                | 120        |
| <br>                    |            |   |            |
| <i>S. cerevisiae</i>    | 121        | ---NV-V--S-D-VL-I-A-A--KQ-----RHS-----H-----KWISEILTKEVQGST           | 180        |
| <b><i>Sz. pombe</i></b> | <b>121</b> | <b>IEADQTIKTTDGYLCRVFVIGFTRRRANQVKKTTYAQSSQIRAIRQKMFQVIONQTS</b>      | <b>180</b> |
|                         | <b>121</b> | <b>---N-----I-----S--V-----H-----ANG--</b>                            | <b>180</b> |
| <i>R. norvegicus</i>    | 121        | ---HVDV-----L-L-CV---KK-N--IR--S---HQ-V-Q--K--MEIMTREVQNTND           | 180        |
| <i>H. sapiens</i>       | 121        | ---HVDV-----L-L-CV---KK-N--IR--S---HQ-V-Q--K--MEIMTREVQNTND           | 180        |
| <i>O. sativa</i>        | 121        | ---HVDV-----ML-L-C---K--P---R-C--A---Q--R--VEIMA--A--D                | 180        |
| <i>A. thaliana</i>      | 121        | ---HVDV-----TL-M-C-A--K-----R-C-----Q--R--SEIMVKEA--D                 | 180        |
| <br>                    |            |   |            |
| <i>S. cerevisiae</i>    | 181        | LAQ-TS-----NK---N--KD-----IH-----L--Q--F-VGA-MA-----GSGE EK           | 240        |
| <b><i>Sz. pombe</i></b> | <b>181</b> | <b>MRELVQKLIPEVIGREIERATGSIFFLQNVLVKVKILKAPKHDQAQKLELHGE,,SQDV</b>    | <b>238</b> |
|                         | <b>181</b> | <b>-K-----K--NN-Y-----F-----,,---</b>                                 | <b>238</b> |
| <i>R. norvegicus</i>    | 181        | LK-V-N---DS--KD--K-CQ--Y--HD-F---M--K--FELG--M-----GG-SGK             | 240        |
| <i>H. sapiens</i>       | 181        | LK-V-N---DS--KD--K-CQ--Y--HD-F---M--K--FELG--M-----GS-SGK             | 240        |
| <i>O. sativa</i>        | 181        | LK---S-F---K--K--S-----F-----F-LG--M-V--DYAKE-I                       | 240        |
| <i>A. thaliana</i>      | 181        | LK---A-F--A-----K--QG-Y-----FI-----F-LG--M-V--DYTA E--                | 240        |
| <br>                    |            |   |            |
| <i>S. cerevisiae</i>    | 241        | -K--TGFKDEVLETV   | 255        |
| <b><i>Sz. pombe</i></b> | <b>239</b> | <b>GTKVVKDVAPLESV</b>   | <b>252</b> |
|                         | <b>239</b> | <b>-S--IS-----</b>  | <b>252</b> |
| <i>R. norvegicus</i>    | 241        | T-GDETGAKVERADGYEPPVQESV  | 264        |
| <i>H. sapiens</i>       | 241        | A-GDETGAKVERADGYEPPVQESV  | 264        |
| <i>O. sativa</i>        | 241        | ---LDRPAEDEAMAGQEVAAA E   | 262        |
| <i>A. thaliana</i>      | 241        | -V--DRPADETMVEEPT EIGA  | 262        |

Рис. 4. Окончание.

во этого рибосомного белка из разных эукариотических организмов прослеживается на всем протяжении молекулы, за исключением, пожалуй, последних 20–25 а.о. (рис. 4б).

В составе геномного клона pYUK71, несущего ген *rpb7+*, мы обнаружили один из генов, кодирующих фактор элонгации трансляции EF-2. Ранее в работе [11] было показано, что этот фактор кодируется в геноме *Sz. pombe* двумя генами (номера депонирования в DDBJ/GenBank D83975 и D83976), причем последовательности кодируемых ими белков идентичны. В то же время имеются расхожде-

ния в третьем положении некоторых кодонов, а 3'-некодирующие области этих генов совершенно различны. Мы показали, что обнаруженный нами ген *eft2a* соответствует последовательности D83976. В процессе секвенирования этого гена нами обнаружено расхождение в дистальной части гена, кодирующей аминокислотные остатки 821–823 (рис. 5). В результате 4-х нуклеотидных замен (GAcGtcgGT → GAAGCTCGT) в определенной нами последовательности исчезает сайт узнавания рестриктазы *AatII* (подчеркнут), что подтверждено экспериментально. Кодированная этим

|                         |          |            |                               |            |
|-------------------------|----------|------------|-------------------------------|------------|
| <i>Sz. pombe</i>        | (D83976) | 815        | ..PGQIVC <b>DVG</b> KRKGLKE.. | 830        |
| <b><i>Sz. pombe</i></b> |          | <b>815</b> | ..PGQIVC <b>EAR</b> KRKGLKE.. | <b>830</b> |
| <i>S. cerevisiae</i>    | (M59369) | 815        | ..AGEIVL <b>AAR</b> KRHGMKE.. | 830        |
| <i>C. albicans</i>      | (Y09664) | 814        | ..PGAIVK <b>EKR</b> VRAGLKP.. | 829        |
| <i>C. elegans</i>       | (M86959) | 825        | ..PNQIVL <b>DTR</b> KRKGLKE.. | 840        |
| <i>D. melanogaster</i>  | (X15805) | 817        | ..PYAIVQ <b>DTR</b> KRKGLKE.. | 832        |
| <i>G. gallus</i>        | (U46663) | 831        | ..PSQVVA <b>ETR</b> KRKGLKE.. | 846        |
| <i>R. norvegicus</i>    | (Y07504) | 831        | ..PSQVVA <b>ETR</b> KRKGLKE.. | 846        |
| <i>H. sapiens</i>       | (X51466) | 831        | ..PSQVVA <b>ETR</b> KRKGLKE.. | 846        |

**Рис. 5.** Сравнение первичной структуры С-концевого фрагмента фактора элонгации трансляции EF-2 из разных организмов. Жирным шрифтом выделена область, в которой последовательность, установленная нами для EF-2 *Sz. pombe*, отличается от последовательности D83976. Подчеркнуты инвариантные аминокислотные остатки.

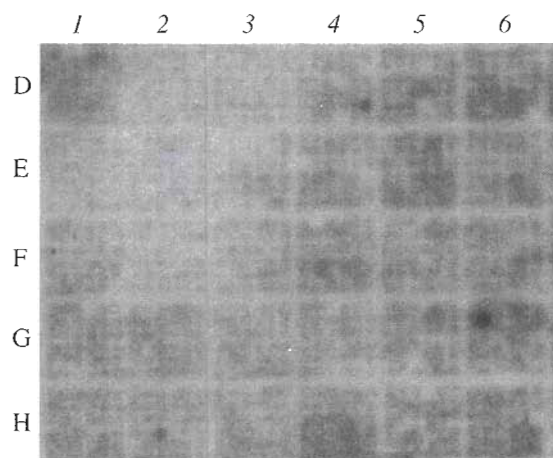
участком ДНК последовательность аминокислот AspValGly меняется на GluAlaArg, при этом явно повышается гомология с другими ортологами EF-2 (рис. 5).

Наш интерес к секвенированию клона pYUK71 объясняется не только наличием в нем гена *rpb7+* [14], но и тем, что он попадает в область хромосомы I, которая содержит один из трех пробелов в самой подробной космидной карте делящихся дрожжей [16]. Для того, чтобы прояснить структуру этого пока неясного участка хромосомы I, мы картировали и секвенировали вставку ДНК *Sz. pombe* длиной 9.6 т.п.о. в плазмиде pYUK71, причем наиболее подробно были охарактеризованы концевые части вставки, содержащие гены *rpb7+* и *eft2a* [17]. С помощью гибридизации на космидных фильтрах высокой плотности ген *eft2a* был картирован нами на хромосоме I *Sz. pombe* вблизи маркера *swi4+* в составе космиды c8G6 из клонотеки ICRF [16] (рис. 6).

В составленной нами таблице суммированы имеющиеся к настоящему моменту данные о первичной структуре и хромосомной локализации генов цитоплазматических рибосомных белков *Sz. pombe*. Большинство последовательностей депонировано в EMBL/GenBank Сэнгеровским Центром в составе аннотированных космид (СЦ), другие найдены нами с помощью программы BLAST в составе неаннотированных космид, секвенирование которых еще не завершено (СЦ\*\*). Приведены также все идентифицированные на данный момент кДНК (в том числе, неполноразмерные), кодирующие рибосомные белки *Sz. pombe*; большинство из них представляют собой неопубликованные, депонированные в GenBank/EMBL/DBJ последовательности. Всего в геноме делящихся дрожжей обнаружено 119 генов/кДНК, кодирующих рибосомные белки (с учетом дублированных и представленных в трех копиях). Предыдущий список генов цитоплазматических

рибосомных белков *Sz. pombe*, составленный Гроссом и Кёфером [30], содержал 54 гена. Уникальным свойством рибосомных белков *Sz. pombe*, отмеченным в этой работе, является присутствие в составе их промоторов особой регуляторной области CAGTCACA (или комплементарной ей – TGTGACTG), названной авторами Homol D.

Как видно из таблицы, на сегодняшний день нет структурных данных только для одного белка малой субчастицы рибосомы (S26), а также для двух белков (L31 и L41), входящих в состав большой субчастицы; для двух других белков этой субчастицы (L21 и L33) к настоящему времени идентифицированы только неполноразмерные кДНК. Для



**Рис. 6.** Авторадиограмма результатов гибридизации космидного фильтра клонотеки ICRF [16] с радиоактивно меченным зондом, содержащим 3'-концевую часть обнаруженного нами гена фактора элонгации трансляции EF-2. Цифры 1–6 и буквы D–H – координаты квадратных ячеек, каждая из которых содержит 36 космид. Положительные сигналы гибридизации видны для космид c8G6 и c30D4 (космида № 8 ячейки G6 и космида № 30 ячейки D4).



Цитоплазматические рибосомные белки *Schizosaccharomyces pombe* и кодирующие их гены

| Белок | Длина белка, а. о. | Гомологи                | Ген            | Хромо-сома | Клон (позиция гена) | Номер депонирования | Интрон | Ссылка |
|-------|--------------------|-------------------------|----------------|------------|---------------------|---------------------|--------|--------|
| S0    | 292                | Sc; Rn; Hs; Dm; Nc; At  | <i>rps0</i>    | II         | c685 (.06)          | AL049474            | 1      | СЦ     |
| S1A   | 252                | Sc; Rn; Hs; Dm; Os; At  | <i>rps1-1</i>  | I          | c13G6 (.02c)        | Z54308              | 0      | СЦ     |
| S1B   | 252                |                         | <i>rps1-2</i>  | I          | c22H12 (.04c)       | AL034565            | 0      | СЦ     |
| ÷     | ÷                  |                         | ÷              | ÷          | pYUL23              | AF127914            | 0      | [&]    |
| S2    | 253                | Sc; Rr; Hs; Dm; At      | <i>rps2</i>    | III        | c576 (.08c)         | AL031798            | 0      | СЦ     |
| S3    | 249                | Sc; Rn; Hs              | <i>rps3</i>    | II         | c16G5 (.14c)        | AL023554            | 1      | СЦ     |
| S4A   | 262                | Sc; Rn; Hs              | <i>rps4-1</i>  | II         | c19F8 (.08)         | AL023594            | 0      | СЦ     |
| ÷     | >260               |                         | ÷              | -          | кДНК*               | AB018354            | -      | БД     |
| S4B   | 262                |                         | <i>rps4-2</i>  | II         | c21B10              | СЦ**                | 0      | СЦ     |
| S5    | 203                | Sc; Rn; Hs; Dm; Car; Sa | <i>rps5</i>    | I          | c8C9 (.08)          | Z99168              | 1      | СЦ     |
| S6    | 239                | Sc; Rn; Hs; Mm          | <i>rps6</i>    | I          | c13G6 (.07c)        | Z54308              | 0      | СЦ     |
| ÷     | 239                |                         | ÷              | ÷          | -                   | M36382              |        | [18]   |
| S7    | 195                | Sc; Rn; Hs; Xl; Ag      | <i>rps7</i>    | I          | c18G6 (.14c)        | Z68198              | 0      | СЦ     |
| S8    | 200                | Sc; Rn; Hs; Ag; Os; At  | <i>rps8</i>    | I          | c2C4 (.16c)         | Z99259              | 0      | СЦ     |
| S9A   | 191                | Sc; Rn; Hs              | <i>rps9-1</i>  | I          | c24H6 (.07)         | Z54142              | 1      | СЦ     |
| ÷     | >184               |                         | ÷              | -          | кДНК*               | AB011008            | -      | БД     |
| S9B   | 192                |                         | <i>rps9-2</i>  | II         | c29A3 (.12)         | AL022299            | 0      | СЦ     |
| S10A  | 144                | Sc; Rn; Hs; Lr; At      | <i>rps10-1</i> | I          | c31G5 (.17c)        | Z98979              | 1      | СЦ     |
| S10B  | 147                |                         | <i>rps10-2</i> | II         | c973 (pi023)        | AB004535            | 1      | БД     |
| S11   | 152                | Sc; Rn; Hs; Mm; Xl; At  | <i>rps11</i>   | II         | c31G5 (.03)         | Z98979              | 0      | СЦ     |
| ÷     | >139               |                         | ÷              | -          | кДНК*               | AB000704            | -      | БД     |
| S12A  | 145                | Sc; Rn; Hs; Mm; Xl; Dm  | <i>rps12-1</i> | III        | c962 (.04)          | AL031323            | 1      | СЦ     |
| S12B  | 148                |                         | <i>rps12-2</i> | II         | c1685 (.02c)        | AL031154            | 1      | СЦ     |
| S13   | 151                | Sc; Rn; Hs; Dm; Lr; Ps  | <i>rps13</i>   | I          | c6F6 (.07c)         | Z98981              | 3      | СЦ     |
| ÷     | ÷                  |                         | ÷              | ÷          | -                   | X67030              | 3      | [19]   |
| S14A  | 139                | Sc; Rr; Hs; Dm; Kl; Ll  | <i>rps14-1</i> | I          | c3H5 (.05c)         | Z99296              | 0      | СЦ     |
| S14B  | 139                |                         | <i>rps14-2</i> | II         | c18H10 (.13)        | AL022304            | 0      | СЦ     |
| S15   | 153                | Sc; Rn; Hs; Xl; At; Os  | <i>rps15</i>   | III        | c1393 (.03)         | AL035592            | 0      | СЦ     |
| S16   | 140                | Sc; Rn; Hs; Os; Fa; Lp  | <i>rps16</i>   | II         | c18H10 (.14)        | AL022304            | 1      | СЦ     |
| ÷     | >138               |                         | ÷              | -          | кДНК*               | AB017604            | -      | БД     |
| S17   | 131                | Sc; Rn; Hs; Nc; At; Dm  | <i>rps17</i>   | II         | c24E9 (.05c)        | AL021816            | 1      | СЦ     |
| S18A  | 153                | Sc; Rr; Hs; Mm; Dm; At  | <i>rps18-1</i> | II         | c16D10 (.11c)       | AL035637            | 1      | СЦ     |
| S18B  | 152                |                         | <i>rps18-2</i> | III        | c1259 (.01c)        | AL034564            | 1      | СЦ     |
| S19A  | >137               | Sc; Rr; Hs; Dm          | <i>rps19-1</i> | ?          | кДНК*               | AB000915            | -      | БД     |
| S19B  | 143                |                         | <i>rps19-2</i> | II         | c649 (.02)          | AL023587            | 1      | СЦ     |
| S20   | 118                | Sc; Rn; Hs; Dm; Xl; Os  | <i>rps20</i>   | III        | c576 (.09)          | AL031798            | 0      | СЦ     |
| S21   | 87                 | Sc; Rn; Hs; Dm; Zm; Os  | <i>rps21</i>   | II         | c18E5               | AL035077            | 1      | СЦ     |
| S22A  | 130                | Sc; Rn; Hs; Dm; At      | <i>rps22-1</i> | I          | c22A12 (.04c)       | Z99295              | 0      | СЦ     |
| ÷     | ÷                  |                         | ÷              | -          | кДНК                | AB015353            | -      | БД     |
| S22B  | 130                |                         | <i>rps22-2</i> | I          | c5D6 (.01)          | Z98056              | 0      | СЦ     |
| S23A  | 143                | Sc; Rn; Hs; Bm          | <i>rps23-1</i> | I          | c23C11 (.02c)       | Z98559              | 0      | СЦ     |
| ÷     | ÷                  |                         | ÷              | -          | кДНК                | AB001288            | -      | БД     |
| S23B  | 143                |                         | <i>rps23-2</i> | II         | c115A3              | СЦ**                | 0      | СЦ     |
| S24A  | 134                | Sc; Rn; Hs; Dm; Mr      | <i>rps24-1</i> | II?        | [c17G9]             | СЦ**                | 1      | СЦ     |
| ÷     | ÷                  |                         | ÷              | -          | кДНК                | AB015168            | -      | БД     |
| S24B  | 134                |                         | <i>rps24-2</i> | I          | c17G6 (.06)         | Z99162              | 1      | СЦ     |
| S25A  | 88                 | Sc; Rr; Hs; Dm          | <i>rps25-1</i> | II         | c3D6 (.15)          | Z95620              | 2      | СЦ     |
| ÷     | ÷                  |                         | ÷              | -          | кДНК                | AB016006            | -      | БД     |
| S25B  | >86                |                         | <i>rps25-2</i> | ?          | кДНК*               | AB000398            | -      | БД     |
| S26   | -                  | Sc; Mm; Hs; Dm; Os      | Нет            | -          | -                   | -                   | -      | -      |
| S27   | 83                 | Sc; Rn; Hs; Xl; At      | <i>rps27-1</i> | II         | c1685 (.10)         | AL031154            | 2      | СЦ     |
| ÷     | >81                |                         | ÷              | -          | pYUK968 (кДНК*)     | AF045155            | -      | [&]    |
| ÷     | >80                |                         | ÷              | -          | кДНК*               | AB015171            | -      | БД     |

Таблица. (Продолжение)

| Белок | Длина белка, а. о. | Гомологи                | Ген            | Хромосома | Клон (позиция гена) | Номер депонирования | Интрон | Ссылка |
|-------|--------------------|-------------------------|----------------|-----------|---------------------|---------------------|--------|--------|
| S28A  | 68                 | Sc; Rr; Hs; Zm; At      | <i>rps28-1</i> | III       | c285 (.15c)         | AL031545            | 1      | СЦ     |
| ÷     | >63                |                         | ÷              | –         | кДНК*               | D85030              | –      | БД     |
| S28B  | 68                 |                         | <i>rps28-2</i> | I         | c25G10 (.06)        | Z70691              | 1      | СЦ     |
| S29   | 56                 | Sc; Rn; Hs; Bt          | <i>rps29</i>   | II        | c1685 (.09)         | AL031154            | 2      | СЦ     |
| S30A  | 61                 | Sc; Rr; Hs              | <i>rps30-1</i> | ?         | кДНК                | AJ002731            | –      | БД     |
| S30B  | 62                 |                         | <i>rps30-2</i> | II        | c19G7 (.03c)        | AL021839            | 1      | СЦ     |
| S31   | 150                | Sc; Rn; Hs; Dm; Zm; At  | <i>rps31</i>   | I         | c6G10 (.11c)        | Z98603              | 0      | СЦ     |
| L1A   | 216                | Sc; Rn; Hs; At          | <i>rpl1-1</i>  | III       | c1183 (.08c)        | AL031740            | 0      | СЦ     |
| L1B   | 216                |                         | <i>rpl1-2</i>  | II        | c30D10 (.18c)       | Z97992              | 1      | СЦ     |
| L2A   | 253                | Sc; Rr; Hs; Xl; At; Le  | <i>rpl2-1</i>  | I         | Ген K5              | X51659              | 0      | [20]   |
| ÷     | 253                |                         | ÷              | I         | c21E11 (.02c)       | Z67999              | 0      | СЦ     |
| L2B   | 253                |                         | <i>rpl2-2</i>  | II        | c2F12 (.07c)        | Z97211              | 0      | СЦ     |
| L2C   | 253                |                         | <i>rpl2-3</i>  | II        | c24E9 (.04)         | AL021816            | 0      | СЦ     |
| L3A   | 388                | Sc; Rr; Hs; Dm; Os; At  | <i>rpl3-1</i>  | I         | c17A5 (.03)         | Z98849              | 0      | СЦ     |
| ÷     | 388                |                         | ÷              | I         | Ген <i>rpgl3-1</i>  | U00798              | 0      | [21]   |
| L3B   | 388                |                         | <i>rpl3-2</i>  | II        | c25D11              | СЦ**                | 0      | СЦ     |
| ÷     | 388                |                         | ÷              | ÷         | Ген <i>rpgl3-2</i>  | X57734              | 0      | [21]   |
| L4A   | 357                | Sc; Rn; Hs; Xl; Dm      | <i>rpl4-1</i>  | ?         | Ген <i>rpl2</i>     | X73146              | 0      | [22]   |
| L4B   | 364                |                         | <i>rpl4-2</i>  | II        | p8B7 (.03c)         | AL032684            | 0      | СЦ     |
| L5A   | 294                | Sc; Rn; Hs; Nc; Xl; Os  | <i>rpl5-1</i>  | I         | –                   | U48270              | 0      | [23]   |
| ÷     | 294                |                         | ÷              | ÷         | c3H5 (.12c)         | Z99206              | 0      | СЦ     |
| L5B   | 294                |                         | <i>rpl5-2</i>  | II        | c11C11 (.09c)       | AL031528            | 0      | СЦ     |
| ÷     | >248               |                         | ÷              | –         | кДНК*               | AB016045            | –      | БД     |
| L6    | 195                | Sc; Rn; Hs              | <i>rpl6</i>    | III       | c622 (.18)          | AL033127            | 0      | СЦ     |
| ÷     | >194               |                         | ÷              | –         | –                   | AB001833            | –      | БД     |
| L7A   | 250                | Sc; Rn; Hs; Mm          | <i>rpl7-1</i>  | I         | –                   | X54983              | 1      | [24]   |
| ÷     | 250                |                         | ÷              | I         | c3H5 (.07)          | Z99206              | 1      | СЦ     |
| L7B   | 251                |                         | <i>rpl7-2</i>  | II        | c18H10 (.12c)       | AL022304            | 1      | СЦ     |
| L8    | 259                | Sc; Rn; Hs; Ag; Os      | <i>rpl8</i>    | II        | c29A3 (.04)         | AL02299             | 1      | СЦ     |
| ÷     | 259                |                         | ÷              | ÷         | Ген <i>rpl7A</i>    | AJ001133            | 1      | [25]   |
| ÷     | >257               |                         | ÷              | –         | кДНК*               | AB005750            | –      | БД     |
| L9A   | 190                | Sc; Rn; Hs; Dm; At; Os  | <i>rpl9-1</i>  | I         | c4G9 (.16c)         | Z69727              | 0      | СЦ     |
| L9B   | 189                |                         | <i>rpl9-2</i>  | III       | c613 (.06)          | AL031644            | 0      | СЦ     |
| L10   | 221                | Sc; Rn; Hs; Dm; Os; Zm  | <i>rpl10</i>   | II        | c18E5 (.04)         | AL035077            | 0      | СЦ     |
| ÷     | 221                |                         | ÷              | –         | кДНК <i>spqM</i>    | U33214              | –      | [26]   |
| L11A  | 174                | Sc; Rn; Hs; Dm; At; Os  | <i>rpl11-1</i> | I         | c26A3 (.07c)        | Z69240              | 0      | СЦ     |
| L11B  | 174                |                         | <i>rpl11-2</i> | II?       | [c17G9]             | СЦ**                | 0      | СЦ     |
| ÷     | 174                |                         | ÷              | –         | кДНК                | AB016005            | –      | БД     |
| L12A  | 165                | Sc; Rn; Hs; At; Dm      | <i>rpl12-1</i> | III       | c16C4 (.13c)        | AL031535            | 0      | СЦ     |
| L12B  | 161                |                         | <i>rpl12-2</i> | III       | c31H12 (.04c)       | AL031824            | 1      | СЦ     |
| L13   | 208                | Sc; Rn; Hs; Cal; At; Dm | <i>rpl13</i>   | ?         | кДНК                | AB016216            | –      | БД     |
| L14   | 134                | Sc; Rn; Hs; Dm; Lr; Ps  | <i>rpl14</i>   | ?         | pRPL14              | AF055375            | –      | [&]    |
| ÷     | 134                |                         | ÷              | –         | кДНК                | AJ002732            | –      | БД     |
| L15   | 201                | Sc; Rn; Hs; Dm; At; An  | <i>rpl15</i>   | III       | c576 (.11)          | AL031798            | 0      | СЦ     |
| L16A  | 198                | Sc; Rn; Hs; Ce; Ll; At  | <i>rpl16-1</i> | II        | c24E9 (.13c)        | AL021816            | 1      | СЦ     |
| ÷     | >193               |                         | ÷              | –         | кДНК*               | AB016008            | –      | БД     |
| L16B  | 198                |                         | <i>rpl16-2</i> | I         | c23A1 (.11)         | AL021813            | 1      | СЦ     |
| L16C  | 197                |                         | <i>rpl16-3</i> | II        | c2G2 (.05)          | AL022103            | 1      | СЦ     |
| L17A  | 187                | Sc; Rn; Hs; Hv; Zm; At  | <i>rpl17-1</i> | II        | c2F12 (.04)         | Z97211              | 0      | СЦ     |
| L17B  | 187                |                         | <i>rpl17-2</i> | III       | c364 (.03)          | AL022243            | 0      | СЦ     |
| L18   | 187                | Sc; Rn; Hs; Xl; At      | <i>rpl18</i>   | II        | c11C11 (.07)        | AL031528            | 1      | СЦ     |

Таблица. (Продолжение)

| Белок | Длина белка, а. о. | Гомологи               | Ген            | Хромо-сома | Клон (позиция гена) | Номер депонирования | Интрон | Ссылка |
|-------|--------------------|------------------------|----------------|------------|---------------------|---------------------|--------|--------|
| L19A  | 193                | Sc; Rn; Hs; Dm         | <i>rpl19-1</i> | II         | c56F2 (.02)         | AL023288            | 0      | СЦ     |
| ÷     | 193                |                        | ÷              | —          | кДНК                | AB015169            | —      | БД     |
| L19B  | 193                |                        | <i>rpl19-2</i> | III        | c1682 (.14)         | AL031525            | 0      | СЦ     |
| ÷     | >186               |                        | ÷              | —          | кДНК*               | AB010048            | —      | БД     |
| L20A  | 176                | Sc; Rn; Hs; Dm; Ss; Os | <i>rpl20-1</i> | I          | c26A3 (.04)         | Z69240              | 0      | СЦ     |
| ÷     | 176                |                        | ÷              | —          | pYUK811 (кДНК)      | AF127913            | —      | [&]    |
| ÷     | >166               |                        | ÷              | —          | кДНК*               | AB009012            | —      | БД     |
| L20B  | 176                |                        | <i>rpl20-2</i> | I          | c3A12 (.10)         | Z95395              | 0      | СЦ     |
| L21   | >158               | Sc; Rr; Hs; Mm         | <i>rpl21</i>   | ?          | кДНК*               | AB010901            | —      | БД     |
| L22   | 115                | Sc; Rn; Hs; Xl         | <i>rpl22</i>   | I          | c11E3 (.15)         | Z98595              | 2      | СЦ     |
| ÷     | >113               |                        | —              | —          | кДНК*               | D86349              | —      | БД     |
| L23A  | 139                | Sc; Rn; Hs; At; Os; Dm | <i>rpl23-1</i> | I          | c3G9 (.03)          | AL021046            | 1      | СЦ     |
| L23B  | 139                |                        | <i>rpl23-2</i> | III        | c1322 (.11)         | AL035259            | 1      | СЦ     |
| L24A  | 149                | Sc; Rn; Hs; Car; Kl    | <i>rpl24-1</i> | I          | c6G9 (.09c)         | Z81317              | 0      | СЦ     |
| L24B  | 149                |                        | <i>rpl24-2</i> | III        | c330 (.14c)         | AL031603            | 0      | СЦ     |
| L25A  | 141                | Sc; Rr; Hs; At; Zm; Dm | <i>rpl25-1</i> | I          | c19G10 (.12c)       | Z69909              | 1      | СЦ     |
| L25B  | 141                |                        | <i>rpl25-2</i> | II         | c4F6 (.04)          | AL031534            | 1      | СЦ     |
| L26   | 126                | Sc; Rn; Hs; Os; Xl; Br | <i>rpl26</i>   | II         | c1228               | D83993**            | 0      | БД     |
| L27A  | 136                | Sc; Rn; Hs; Ps; Cs; Ce | <i>rpl27-1</i> | II         | c685 (.07c)         | AL049474            | 1      | СЦ     |
| ÷     | >133               |                        | ÷              | —          | кДНК                | AB015354            | —      | БД     |
| L27B  | 136                |                        | <i>rpl27-2</i> | III        | c74 (.05)           | AL031543            | 1      | СЦ     |
| L28A  | 148                | Sc; Rn; Hs; At; Xl; Dm | <i>rpl28-1</i> | II         | c776 (.11)          | AL035263            | 0      | СЦ     |
| ÷     | 148                |                        | ÷              | II         | Ген <i>rpl29</i>    | Z37501              | 0      | [27]   |
| L28B  | 148                |                        | <i>rpl28-2</i> | III        | c5E4(.07)           | AL033406            | 0      | СЦ     |
| ÷     | 148                |                        | ÷              | III        | Ген <i>rpgL29</i>   | X57207              | 0      | [27]   |
| L29   | 61                 | Sc; Rn; Hs; Dm         | <i>rpl29</i>   | II         | c776 (.01)          | AL035263            | 1      | СЦ     |
| ÷     | >58                |                        | ÷              | —          | кДНК*               | D87869              | —      | БД     |
| L30   | 109                | Sc; Rn; Hs; Zm; Ll     | <i>rpl30</i>   | I          | c9G1 (.03c)         | Z98763              | 1      | СЦ     |
| ÷     | 109                |                        | ÷              | ÷          | Ген <i>rpl32-1</i>  | U52080              | 1      | [28]   |
| L31   | —                  | Sc; Rr; Hs             | Нет            | —          | —                   | —                   | —      | —      |
| L32A  | 127                | Sc; Rn; Hs; Dm         | <i>rpl32-1</i> | II         | c16C6 (.11)         | AL021767            | 0      | СЦ     |
| L32B  | 127                |                        | <i>rpl32-2</i> | I          | c3H5 (.10)          | Z99206              | 0      | СЦ     |
| ÷     | >124               |                        | ÷              | —          | кДНК*               | AB000914            | —      | БД     |
| L33   | >107               | Sc; Rn; Hs; Xl         | <i>rpl33</i>   | ?          | кДНК*               | AB017603            | —      | БД     |
| L34A  | 112                | Sc; Rr; Hs; Ps; Nt     | <i>rpl34-1</i> | I          | c23A1 (.08c)        | AL021813            | 0      | СЦ     |
| L34B  | 111                |                        | <i>rpl34-2</i> | III        | c1322 (.15)         | AL035259            | 0      | СЦ     |
| L35   | 122                | Sc; Rn; Hs; Bb; Os     | <i>rpl35</i>   | III        | c613 (.05c)         | AL031644            | 1      | СЦ     |
| L36   | 99                 | Sc; Rn; Hs; Dm; Ca     | <i>rpl36</i>   | III        | c970 (.05)          | AL031530            | 1      | СЦ     |
| ÷     | >93                |                        | ÷              | III        | кДНК*               | D88771              | —      | БД     |
| L37A  | 89                 | Sc; Rn; Hs; Li         | <i>rpl37-1</i> | ?          | кДНК                | AB009637            | 1      | БД     |
| L37B  | 91                 |                        | <i>rpl37-2</i> | III        | c1223 (.05c)        | AL031579            | —      | СЦ     |
| L38A  | >65                | Sc; Rn; Hs; Os         | <i>rpl38-1</i> | ?          | кДНК*               | AB006199            | —      | БД     |
| L38B  | 74                 |                        | <i>rpl38-2</i> | I          | c30D11 (.12)        | Z67961              | 2      | СЦ     |
| L39   | 51                 | Sc; Rn; Hs; Dm; Zm; At | <i>rpl39</i>   | III        | c663 (.04)          | AL031307            | 0      | СЦ     |
| L40   | 128                | Sc; Rn; Hs; Dm         | <i>rpl40</i>   | I          | c11G7 (.04)         | Z99161              | 0      | СЦ     |
| L41   | —                  | Sc; Hs                 | Нет            | —          | —                   | —                   | —      | —      |
| L42   | 103                | Sc; Rn; Hs; Os; At     | <i>rpl42</i>   | I?         | [c15E1]             | СЦ**                | 1      | СЦ     |
| L43A  | 93                 | Sc; Rr; Hs; Br         | <i>rpl43-1</i> | II         | c800**              | U41410              | 1      | БД     |
| L43B  | 94                 |                        | <i>rpl43-2</i> | II         | c83 (.02c)          | AL035536            | 1      | СЦ     |
| ÷     | >85                |                        | ÷              | —          | кДНК*               | AB005904            | —      | БД     |
| L44   | 134                | Rn; Hs; Mm; Ce; Tc     | <i>rpl44</i>   | I          | c1687 (.06c)        | AL035064            | 0      | СЦ     |
| ÷     | >123               |                        | ÷              | —          | кДНК*               | AB016007            | —      | БД     |

Таблица. (Окончание)

| Белок | Длина белка, а. о. | Гомологи               | Ген           | Хромосома | Клон (позиция гена) | Номер депонирования | Интрон | Ссылка |
|-------|--------------------|------------------------|---------------|-----------|---------------------|---------------------|--------|--------|
| P0    | 312                | Sc; Rn; Hs; Dm; Os; Ll | <i>rpp0</i>   | III       | c18 (.14c)          | AL031907            | 1      | СЦ     |
| P1A   | 109                | Sc; Rn; Hs             | <i>rpp1-1</i> | ?         | Ген <i>rpa1</i>     | M33137              | 1      | [29]   |
| P1B   | 110                |                        | <i>rpp1-2</i> | II        | c3B9 (.13c)         | AL022070            | 2      | СЦ     |
| ÷     | 110                |                        | ÷             | ÷         | Ген <i>rpa3</i>     | M33139              | ÷      | [29]   |
| P1C   | 110                |                        | <i>rpp1-3</i> | —         | кДНК <i>rpa5</i>    | AJ002733            | —      | [30]   |
| P2A   | 110                | Sc; Rn; Hs             | <i>rpp2-1</i> | II        | p8B7 (.06)          | AL032684            | 1      | СЦ     |
| ÷     | 110                |                        | ÷             | ÷         | Ген <i>rpa2</i>     | M33138              | ÷      | [29]   |
| P2B   | 110                |                        | <i>rpp2-2</i> | II        | c23G7 (.15c)        | AL035065            | 1      | СЦ     |
| ÷     | 110                |                        | ÷             | ÷         | Ген <i>rpa4</i>     | M33142              | ÷      | [29]   |
| P2C   | 110                |                        | <i>rpp2-3</i> | —         | кДНК <i>rpa6</i>    | AJ002734            | —      | [30]   |

Примечания:

БД – Неопубликованные последовательности, доступные в базах данных GenBank/EMBL.

СЦ – Данные Сэнгерского Центра.

[&] – Данные настоящей работы.

\* – Неполная кДНК.

\*\* – Плазмида неаннотирована; координаты генов найдены с помощью программы BLAST Сэнгерского Центра (Великобритания; www.sanger.ac.uk).

В таблице использованы следующие сокращения названий организмов: Ag – *Anopheles gambiae*; An – *Aspergillus niger*; At – *Arabidopsis thaliana*; Bb – *Babesia bovis*; Bm – *Brugia malayi*; Br – *Brassica rapa*; Bt – *Bos taurus*; Cal – *Candida albicans*; Car – *Cicer arietinum*; Ce – *Caenorhabditis elegans*; Cs – *Chlamydomonas (Pyrobotris) stellata*; Dm – *Drosophila melanogaster*; Fa – *Fritillaria agrestis*; Hs – *Homo sapiens*; Hv – *Hordeum vulgare*; Kl – *Kluyveromyces lactis*; Le – *Lycopersicon esculentum*; Li – *Leishmania infantum*; Ll – *Lupinus luteus*; Lr – *Lumbricus rubellus*; Lp – *Lupinus polyphyllus*; Mm – *Mus musculus*; Mr – *Mucor racemosus*; Ne – *Neurospora crassa*; Nt – *Nicotiana tabacum*; Os – *Oryza sativa*; Ps – *Pisum sativum*; Rn – *Rattus norvegicus*; Rr – *Rattus rattus*; Sa – *Sulfolobus acidocaldarius*; Sc – *Saccharomyces cerevisiae*; Ss – *Salmo salar*; Tc – *Trypanosoma cruzi*; Xl – *Xenopus laevis*; Zm – *Zea mays*.

половины рибосомных белков *Sz. pombe* найдено по два гена-паралога, а для белков L2, L16, P1 и P2 – даже по три (см. также [20]). Возможно, в некоторых из этих случаев один из трех генов кодирует соответствующий рибосомный белок митохондрий. Поскольку все три гена-паралога в этих случаях кодируют практически идентичные белки, отнести найденные изоформы к цитоплазматическим или митохондриальным белкам без дополнительных экспериментальных данных не представляется возможным. Интересный случай представляет белок L10, кодируемый в *S. cerevisiae* геном *GRC5*, который вовлечен во многие клеточные процессы [31]. Идентифицированный гомолог этого гена из *Sz. pombe* (*spqM*) также отнесен к *QM*-семейству генов, кодирующих факторы транскрипции [26]. Продукты этих генов локализованы в цитоплазме и высоко гомологичны рибосомному белку L10 крысы, что позволяет признать *GRC5 S. cerevisiae* и *SpqM Sz. pombe* рибосомными белками L10 (см. [6]).

Необходимо отметить, что в геноме *Sz. pombe*, в отличие от генома *S. cerevisiae*, обнаружен ген, кодирующий гомолог рибосомного белка L28 крысы (L44 в нашей таблице). Первоначально он был обнаружен в составе космиды c2E11 (EMBL/GenBank Z98850). Мы показали, что эта космида имеет химерное происхождение [17], в связи с чем ее последовательность была разбита на два локуса: SPUNK4 и SPUNK5, последний из которых содержит ген *rpl44*. В настоящее время этот ген локализован Сэнгерским Центром в составе космиды c1687 (EMBL/GenBank AL022070;

локус SPAC1687.06c). Недавно обнаружена неполная кДНК этого гена (DDBJ/GenBank AB016007, см. таблицу), что свидетельствует о его экспрессии в клетках *Sz. pombe*.

Мы рассчитываем, что составленный нами список рибосомных белков *Sz. pombe* и кодирующих их генетических детерминант будет способствовать быстрому распространению новой обобщающей номенклатуры белков эукариотических рибосом, предложенной Р. Панта и В. Магером [5, 6]. Есть также надежда, что некоторая незавершенность предложенного нами реестра привлечет новых исследователей к анализу аппарата трансляции делящихся дрожжей *Sz. pombe* и будет хорошим стимулом для завершения этой работы.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Клонотекы делящихся дрожжей *Sz. pombe* и рекомбинантные плазмиды.** Исползованные в работе кДНК- и геномная клонотекы дикого штамма дрожжей *Sz. pombe* 972 h<sup>-</sup> описаны в работах [12, 32]. Плазмида pYUK71 (из первичного разведения A16 геномной клонотекы) с генами *rpb7<sup>+</sup>* и *eft2a* содержит вставку ДНК *Sz. pombe* длиной 9.6 т.п.о. *VamHI/HindIII*-фрагмент (~900 п.о.) этой плазмиды, содержащий дистальный участок и 3'-некодирующую область гена *eft2a*, субклонирован в векторе pUC19 с образованием плазмиды pBS3ΔHindIII. Геномный клон pYUL23 описан в работе [15].

**ПЦР с вырожденными праймерами** проводили как описано ранее [13].

**Супрессорный анализ** термочувствительного штамма *S. cerevisiae* WY-9 [33] проводили путем трансформации этого мутантного штамма образцами суммарной ДНК плазмид кДНК-клонотеки *Sz. pombe* с последующим отбором быстро растущих колоний строго при 37°C. Перенос плазмиды из дрожжевой клетки в бактериальную осуществляли по методу [34].

**Секвенирование двухцепочечной ДНК** проводили после щелочного лизиса методом дидезоксинуклеотидных терминаторов с использованием наборов для секвенирования с модифицированной ДНК-полимеразой фага T7, "Sequenase 2.0" (USB, США) и *Taq*-полимеразой (набор dsDNA Cycle Sequencing System; GibcoBRL, США) согласно инструкциям фирм-производителей. Для секвенирования клонов, выделенных из кДНК-клонотеки, использовали праймеры oGVS156 и oGVS157 [13]; для секвенирования генов *eft2a* (в составе плазмиды pYUK71 и ее субклонов на основе вектора pUC19) и *rps1-1* (в составе pYUL23) использовали универсальные праймеры #1224 и #1233 (New England Biolabs, США).

**Сравнение нуклеотидных и аминокислотных последовательностей и поиск ортологов рибосомных белков** проводили с использованием пакета программ BLAST серверов <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> и <http://www.sanger.ac.uk> [35]. Последовательности как аннотированных, так и еще неаннотированных космид, секвенированных в Сэнгеровском Центре (см. таблицу), получены нами в директории PomBase (<http://www.sanger.ac.uk>). Основой для поиска ортологов рибосомных белков служили соответствующие последовательности *S. cerevisiae* из списка, составленного Планта и Магером [5, 6].

**Картирование генов на хромосомах *Sz. pombe*** проводили с помощью гибридизации на космидных фильтрах с высокой плотностью колоний, содержащих набор клонов, полностью перекрывающий весь геном *Sz. pombe* (предоставлены нам Сэнгеровским Центром в рамках совместной работы по прояснению "неясного" места на хромосоме I *Sz. pombe* в районе гена *swi4<sup>+</sup>*). В качестве зонда при картировании *eft2a* использовали содержащий 3'-концевую часть этого гена *Bam*HI/*Hind*III-фрагмент длиной ~900 п.о. из субклона pBS3Δ*Hind*III [17], меченный фрагментом Кленова ДНК-полимеразы I и [α-<sup>32</sup>P]dATP. Процедуры гибридизации осуществляли по стандартной методике [36].

Установленные в настоящей работе последовательности депонированы в GenBank/EMBL под номерами AF045155 (*rps27*), AF055375 (*rpl14*), AF127913 (*rpl20-1*), AF127914 (*rps1-2*).

Авторы благодарят А. Эдвардса за штамм WY-9, А. Вула и Н. Кёфера за предоставление нам неопубликованных данных.

Проект секвенирования генома *Sz. pombe* был начат в Сэнгеровском Центре и первоначально финансировался фондом Wellcome Trust. В настоящее время этот проект осуществляется Европейским консорциумом, включающим Сэнгеровский Центр и 12 других европейских секвенирующих лабораторий, и финансируется Европейской комиссией.

Настоящая работа частично поддержана грантом Государственной научно-технической программы России "Новейшие направления биоинженерии".

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ramakrishnan V., White S.W. // Trends in Biochem. Sci. 1998. V. 23. P. 208–212.
2. Kruiswijk T., Planta R.J. // Mol. Biol. Rep. 1974. V. 1. P. 409–415.
3. Goffeau A., Barrell B.G., Bussey H., Davis R.W., Dujon B., Feldmann H., Galibert F., Hoheisel J.D., Jacq C., Johnston M. et al. // Science. 1996. V. 274. P. 546–567.
4. Goffeau A., Aert R., Agostini-Carbone M.L. et al. // Nature. 1997. V. 387. Suppl. to issue 6632.
5. Mager W.H., Planta R.J., Ballesta J.-P.G., Lee J.C., Mizuta K., Suzuki K., Warner J.R., Woolford J. // Nucl. Acids Res. 1997. V. 25. P. 4872–4875.
6. Planta R.J., Mager W.H. // Yeast. 1998. V. 14. P. 471–477.
7. Verschoor A., Warner J. R., Srivastava S., Grassucci R.A., Frank J. // Nucl. Acids Res. 1998. V. 26. P. 655–661.
8. Wool I.G., Chan Y.-L., Glück A. // Biochem. Cell Biol. 1995. V. 73. P. 933–947.
9. Sipiczki M. // Molecular Biology of the Fission Yeast / Eds A. Nasim, P. Young, B.F. Johnson. San Diego; London; Sydney; Tokyo: Acad. Press, 1989. P. 431–452.
10. Nishida H., Sugiyama J. // Mycoscience. 1994. V. 35. P. 361–366.
11. Mita K., Morimyo M., Ito K., Sigaya K., Ebihara K., Hongo E., Higashi T., Hirayama Y., Nakamura Y. // Gene. 1997. V. 187. P. 259–266.
12. Becker D.M., Fikes J.D., Guarente L. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1991. V. 88. P. 1968–1972.
13. Шпаковский Г.В., Прошкин С.А., Каюшин А.Л., Коростелева М.Д., Лебедево Е.Н. // Биоорганическая химия. 1997. Т. 24. С. 119–125.
14. Шпаковский Г.В., Лебедево Е.Н. // Биоорганическая химия. 1997. Т. 23. С. 988–991.
15. Шпаковский Г.В., Шематорова Е.К. // Биоорганическая химия. 1998. Т. 24. С. 933–937.
16. Hoheisel J.D., Maier E., Mott R., McCarthy L., Grigoriev A.V., Schalkwyk L.C., Nizetic D., Francis F., Lehrach H. // Cell. 1993. V. 73. P. 109–120.
17. Баранова Г.М., Лебедево Е.Н., Шпаковский Г.В. // Материалы международной конференции "Проблемы микробиологии и биотехнологии", Минск, 1998. С. 11–12.
18. Gross T., Nischt R., Gatermann K., Swida U., Käufer N.F. // Curr. Genet. 1988. V. 13. P. 57–63.
19. Marks J., Simanis V. // Nucl. Acids Res. 1992. V. 20. P. 4094.

20. Gatermann K.B., Teletski C., Gross T., Käufer N.F. // *Curr. Genet.* 1989. V. 16. P. 361–367.
21. Liebich I., Kohler G., Witt I., Gross T., Käufer N.F. // *Gene.* 1994. V. 142. P. 119–122.
22. Presutti C., Villa T., Bozzoni I. // *Nucl. Acids Res.* 1993. V. 21. P. 3900.
23. Michael W.M., Dreyfuss G. // *J. Biol. Chem.* 1996. V. 271. P. 11571–11574.
24. Damagnez V., de Recondo A.M., Baldacci G. // *Nucl. Acids Res.* 1991. V. 19. P. 1099–1104.
25. Marchfelder A., Clayton D.A., Brennicke A. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1998. V. 1397. P. 146–150.
26. Masson J.Y., Vadnais J., Ramotar D. // *Gene.* 1996. V. 170. P. 153–154.
27. Witt I., Kwart M., Gross T., Käufer N.F. // *Nucl. Acids Res.* 1995. V. 23. P. 4296–4302.
28. Witt I., Straub N., Käufer N.F., Gross T. // *EMBO J.* 1993. V. 12. P. 1201–1208.
29. Beltrame M., Bianchi M.E. // *Mol. Cell. Biol.* 1990. V. 10. P. 2341–2348.
30. Gross T., Käufer N.F. // *Nucl. Acids Res.* 1998. V. 26. P. 3319–3322.
31. Koller H.T., Klade T., Ellinger A., Breitenbach M. // *Yeast.* 1996. V. 12. P. 53–65.
32. Weaver D.C., Shpakovski G.V., Caputo E., Levin H.L., Boeke J.D. // *Gene.* 1993. V. 131. P. 135–139.
33. Woychik N.A., Lane W.S., Young R.A. // *J. Biol. Chem.* 1991. V. 266. P. 19053–19055.
34. Hoffman C., Winston F. // *Gene.* 1987. V. 57. P. 267–272.
35. Altschul S.F., Madden T.L., Schaffer A.A., Zhang J., Zhang Z., Miller W., Lipman D. // *Nucl. Acids Res.* 1997. V. 25. P. 3389–3402.
36. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование: Пер. с англ. М.: Мир, 1984. С. 303–306.

## Molecular Cloning of Some Components of the Translation Apparatus of Fission Yeast *Schizosaccharomyces pombe* and a Unified List of Its Cytoplasmic Ribosomal Proteins

G .V. Shpakovskii\*, G. M. Baranova\*, V. Wood\*\*, R. G. Gwilliam\*\*, E. K. Shematorova\*, O. L. Korol'chuk\*, and E. N. Lebedenko\*\*

\*Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, ul. Miklukho-Maklaya 16/10, GSP-7 Moscow, 117871 Russia

\*\*The Sanger Centre, Hinxton Hall, Hinxton, Cambridge CB10 1SA, United Kingdom

Full-length cDNAs of four new genes encoding cytoplasmic ribosomal proteins L14 and L20 (large ribosomal subunit) and S1 and S27 (small ribosomal subunit) were isolated and sequenced during the analysis of the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* genome. One of the *Sz. pombe* genes encoding translation elongation factor EF-2 was also cloned and its precise position on chromosome I established. A unified nomenclature was proposed, and the list of all known genetic determinants encoding cytoplasmic ribosomal proteins of *Sz. pombe* was compiled. By now, 76 genes/cDNAs encoding different ribosomal proteins have been identified in the fission yeast genome. Among them, 35 genes are duplicated and three homologous genes are identified for each of the ribosomal proteins L2, L16, P1, and P2.

*Key words:* yeast *Schizosaccharomyces pombe*, genome analysis, cytoplasmic ribosomal proteins list and unified nomenclature; cDNAs and genes for proteins L14 (*rpl14*), L20 (*rpl20*), S1 (*rps1*), and S27 (*rps27*); translation elongation factor EF-2 (*eft2a* gene); hybridization on high density cosmid filters

# To whom correspondence should be addressed; phone: +7 (095) 330-6583; fax: +7 (095) 335-7103; e-mail: el@ibch.siobc.ras.ru.