



УДК 547.963.32

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ 5S-РНК С БЕЛКАМИ МАЛОЙ СУБЧАСТИЦЫ
РИБОСОМЫ *ESCHERICHIA COLI*

Устав М. В., Лунд А. Я., Саарма М. Ю.,
Виллемс Р. Л.-Э.

Тартуский государственный университет;
Институт физики АН ЭССР, г. Тарту

Учитывая предположение, что 5S-РНК локализована в акцепторном участке рибосомы [1, 2], а сам этот участок находится на контактной поверхности рибосомных субчастиц (см., например, [3]), можно поставить вопрос о взаимодействии 5S-РНК наряду с белками 50S-субчастицы также и с белками малой субчастицы рибосомы. Согласно недавнему сообщению Баррела и Хоровица [4], иммобилизованная на сефарозе 5S-РНК способна лишь слабо взаимодействовать с белками 30S-субчастицы рибосомы *E. coli*, главным образом с белком S3. Как показали результаты нашей работы, использование для связывания на сефарозе 5S-РНК более длинной «ножки» приводит к образованию стабильного комплекса этой РНК с некоторыми белками 30S-субчастицы (S4, S6, S7, S9, S13, S18, S20).

Окисленную периодатом 5S-РНК иммобилизовали на эпоксиактивированной сефарозе 6В (Pharmacia, Швеция) через дигидразид адипиновой кислоты, что позволило получить достаточно гидрофильную «ножку» длиной ~ 30 Å. Показано, что ни сама «ножка», ни иммобилизованные на ней тетрауклеотиды (продукт гидролиза рРНК неспецифической эндонуклеазой [5]) не связывают рибосомные белки на такой модифицированной сефарозе даже при относительно низкой ионной силе (0,1 М КСl).

Результаты работы приведены на рис. 1. В опытах, когда связывание белков исследовали в буфере, содержащем 0,3 М КСl и 0,005 М MgCl₂, также обнаруживали идентичный набор белков. В условиях с близкой ионной силой, но при концентрации MgCl₂ 0,03 М, в наборе отсутствовали белки S7 и S12. Таким образом, в условиях, при которых с иммобилизованной 5S-РНК связываются белки L5, L18 и L25 50S-субчастицы (рис. 2), РНК образует комплекс и с рядом белков 30S-субчастицы.

В опытах с белками 70S-рибосомы при высокой концентрации MgCl₂ (0,03 М) с иммобилизованной 5S-РНК связывались преимущественно белки S4, L18 и L25 и в меньшей степени L2 и L5. Это еще раз свидетельствует о том, что белок S4 взаимодействует с 5S-РНК, как и «классические» белки 5S-РНК белкового комплекса — L18 и L25.

Результаты нашей работы существенно отличаются от данных Баррела и Хоровица [4], показавших, что при пропуске рибосомных белков

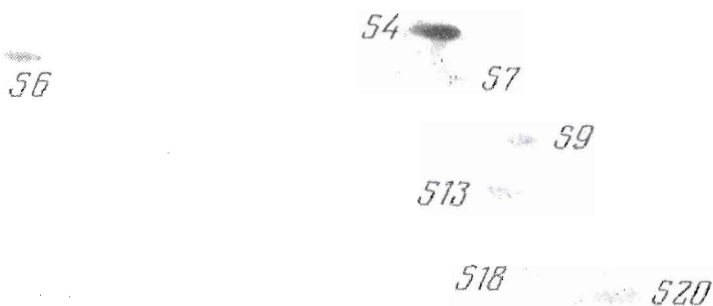


Рис. 1. Двумерное разделение белков 30S-субчастицы рибосомы *E. coli*, связанных иммобилизованной 5S-РНК в 0,01 М Трис-НСl-буфере, рН 7,5, содержащем 0,3 М КСl, 0,001М MgCl₂ и 0,006 М 2-меркаптоэтанол. Условия электрофореза приведены в [7]

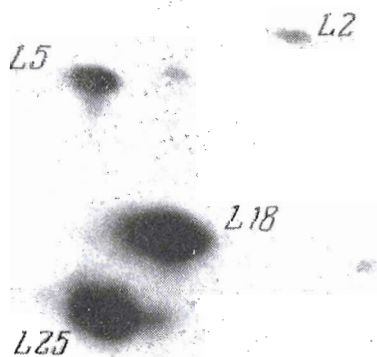


Рис. 2. Двумерное разделение белков 50S-субчастицы рибосомы *E. coli*, связанных иммобилизованной 5S-РНК в 0,01 М Трис-НСl-буфере, рН 7,5, содержащем 0,3 М КСl, 0,03 М MgCl₂ и 0,006 М 2-меркаптоэтанол

через колонку с иммобилизованной 5S-РНК слабо связываются лишь некоторые из них и что главным связывающимся белком является белок S3. Во всех исследованных нами условиях (0,001—0,03 М MgCl₂, 0,1—0,3 М КСl) этот белок не связывался с иммобилизованной 5S-РНК. Если первое различие, по всей вероятности, объясняется использованием нами более длинной «ножки», то различие в главном связывающемся с 5S-РНК белке остается неясным.

Выше были приведены данные о контрольных экспериментах, поэтому в условиях опыта следует считать связывание белков 30S-субчастицы рибосомы с иммобилизованной 5S-РНК специфичным.

На основании приведенных данных можно предположить участие 5S-РНК в ассоциации рибосомных субчастиц и вновь рассмотреть ее в роли «шарнира» между рибосомными субчастицами [6].

ЛИТЕРАТУРА

1. Erdmann V. A., Sprinzl M., Pongs O. (1973) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **54**, 942—948.
2. Erdmann V. A., Sprinzl M., Richter D., Lorenz S. (1974) *Acta biol. et med. Germ.*, **33**, 605—608.
3. Lake J. A. (1977) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **74**, 1903—1907.
4. Burrell H. R., Horowitz J. (1977) *Eur. J. Biochem.*, **75**, 533—544.
5. Сёзт М. Б., Саарма М. Ю., Виллемс Р. Л.-Э., Лийд А. Я., Василенко С. К. (1974) *Молекулярн. биология*, **8**, 723—728.
6. Comb D. G., Sarkar N. (1967) *J. Mol. Biol.*, **25**, 317—330.
7. Howard G. A., Traut R. R. (1974) in *Methods in Enzymology* (Moldave K., Grossmann L., eds.), vol. 30, part F, pp. 526—539.

Поступило в редакцию
16.VIII.1977

THE INTERACTION OF 5S RNA WITH THE *ESCHERICHIA COLI* 30S RIBOSOMAL SUBUNIT PROTEINS

USTAV M. B., LIND A. J., SAARMA M. J.,
VILLEMS R. L. E.

*Tartu State University and Institute of Physics;
Academy of Sciences of Estonian SSR, Tartu*

The immobilized to Sepharose 5S RNA was found to form a complex not only with 50S ribosomal subunit proteins but also with those from 30S subunit. At a high $MgCl_2$ concentration the main proteins bound to the RNA from 50S subunit were L5, L18 and L25 while S4 was the main one from the 30S subunit proteins. In addition to S4, 30S subunit proteins S6, S7, S9, S13, S18 and S20 also stick to the immobilized 5S RNA. The results obtained point to the role of 5S RNA in the association of ribosomal subunits.
