



УДК 547.962.32 + 577.1

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ, ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ С тРНК В А- и Р- САЙТАХ РИБОСОМЫ *E. COLI*

Абдурашидова Г. Г., Турчинский М. Ф., Салихов Т. А.,  
Асламов Х. А., Будовский Э. И.

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

Отдел биоорганической химии Академии наук УзССР, Ташкент

При трансляции тРНК переходит из А-сайта в Р-сайт рибосомы [1], что, очевидно, должно сопровождаться изменением специфических контактов тРНК с рибосомальными белками. Однако сведения о таких контактах получены, строго говоря, непрямыми методами, часто приводящими к не вполне согласующимся результатам (см., например, [2, 3], ср. [4]). Насколько нам известно, единственным методом для обнаружения и фиксации контактов между компонентами полинуклеотидов и белков в пуклеопротеидах является УФ-индуцированное образование ковалентных сшивок между ними [5]. С помощью этого метода мы идентифицировали рибосомальные белки, взаимодействующие с тРНК в составе тройного комплекса Phe-тРНК<sup>Phe</sup>·poly(U)·30S-субчастицы рибосом *E. coli* [6]. В настоящей работе идентифицированы рибосомальные белки, контактирующие с тРНК в А- и Р-сайтах рибосомы *E. coli*.

70S-рибосомы *E. coli* [7], Phe-[<sup>32</sup>P]тРНК<sup>Phe</sup> [8], Ac-Phe-[<sup>32</sup>P]тРНК<sup>Phe</sup> [9] и тройные комплексы Phe-[<sup>32</sup>P]тРНК<sup>Phe</sup>·poly(U)·70S-рибосомы

Белки 70S-рибосомы *E. coli*, ковалентно связывающиеся с тРНК<sup>Phe</sup> при  
УФ-облучении тройных комплексов Phe-[<sup>32</sup>P]тРНК<sup>Phe</sup>·poly(U)·70S и  
Ac-Phe-[<sup>32</sup>P]тРНК<sup>Phe</sup>·poly(U)·70S

Приведены абсолютная\* (имп/мин) и относительная (% от общей)  
радиоактивности участков геля, содержащих пришитые белки

Рибосомальные белки	Phe-[ <sup>32</sup> P]тРНК <sup>Phe</sup> (А-сайт 70S)		Ac-Phe-[ <sup>32</sup> P]тРНК <sup>Phe</sup> (Р-сайт 70S)	
	имп/мин	%	имп/мин	%
S5	5686	19,5	***	—
S7	835	2,8	900	2,2
S9/S14 **	4723	16,2	7450	18,4
S10	4328	14,9	***	—
L2	3747	12,8	1825	20,1
L4	***	—	7360	18,7
L6	5467	18,8	***	—
L7/L12	***	—	6337	15,6
L16	4358	15,0	***	—
L25/S17 **	***	—	1460	3,6
L27/S13/S14 **	***	—	8900	21,4

\* Превышение над фоном, составляющим ≤200 имп/мин.

\*\* Данные белки в используемой системе не разделяются.

\*\*\* Счет в соответствующих участках геля не превышал уровня фона.

{тРНК локализована в А-сайте) [10] и Ac-Phe-[<sup>32</sup>P]тРНК<sup>Phe</sup>.poly(U)·70S-рибосомы (тРНК локализована в Р-сайте) [11] получали и охарактеризовывали по методикам, описанным в приведенных выше работах. Свежеприготовленные растворы комплексов (3 мл, 10 ОЕ<sub>260</sub>) облучали при 0° при перемешивании в чашках Петри (20 см<sup>2</sup>) полным светом ртутной лампы низкого давления. Интенсивность светового потока (при 254 нм) 0,84·10<sup>17</sup> квант·см<sup>-2</sup>·мин<sup>-1</sup>. После 60 мин облучения комплексы осаждали спиртом и подвергали гидролизу смесью рибонуклеаз А и Т<sub>1</sub>. Гидролизат разделяли двумерным электрофорезом в полиакриламидном геле [12]. Рибосомальные белки, которые были ковалентно пришиты к тРНК, несут [<sup>32</sup>P]олигонуклеотиды, что дает возможность обнаружить их и идентифицировать путем автордиографии (ср. [13]). Участки геля, содержащие белки, связанные с олигонуклеотидами, извлекали и просчитывали радиоактивность по Черенкову. В контрольных экспериментах комплексы не облучали, и радиоактивность в гелях не обнаружена.

Из данных, приведенных в таблице, видно, что наборы рибосомальных белков, взаимодействующих с тРНК в А- и Р-сайтах рибосомы *E. coli*, различны, хотя часть белков (S7, S9/S11, L2) взаимодействует с тРНК в обоих сайтах.

Аналогичные результаты были получены при облучении комплексов 70S-рибосом с суммарной тРНК, аминокислотированной набором 20 аминокислот (со свободными или N-ацетилированными аминогруппами), и смесью олигонуклеотидов в качестве матриц.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Lengyel P. (1974) in Ribosomes (Nomura M., Tissieres A., Lengyel P., eds.), pp. 13—53, Cold Spring Harbor Laboratory, N. Y.
2. Краевский А. А., Кухачова М. К., Готтих Б. П. (1977) Пептидил-трансферазный центр рибосом (Итоги науки и техники, серия «Молекулярная биология», т. 9), с. 9—36, ВИНТИ, М.
3. Cornick G. G., Kretsinger R. H. (1977) *Biochim. et biophys. acta*, **474**, 398—410.
4. Ustav M., Villems R., Saarma M., Lind A. (1977) *FEBS Lett.*, **83**, 353—356.
5. Smith K. C. (1976) in *Aging, Carcinogenesis and Radiation Biology* (Smith K. C., ed.), pp. 67—83, Plenum Press, London — N. Y.
6. Абдурашидова Г. Г., Турчинский М. Ф., Асланов Х. А., Будовский Э. И. (1977) *Биоорган. химия*, **3**, 1570—1572.
7. Traub P., Mizushima C., Lowry C. V., Nomura M. (1971) in *Methods in Enzymology* (Moldave K., Grossman L., eds.), **20**, 391—407, Acad. Press, London — N. Y.
8. Gillam I. C., Tener G. M. (1971) in *Methods in Enzymology* (Moldave K., Grossman L., eds.), **20**, 381—391, Acad. Press, London — N. Y.
9. Haenni A.-L., Chapeville F. (1966) *Biochim. et biophys. acta*, **114**, 135—140.
10. Pestka S. (1974) in *Methods in Enzymology* (Moldave K., Grossman L., eds.), **30**, 439—451, Acad. Press, London — N. Y.
11. Семенов Ю. П., Кириллов С. В., Махно В. И., Шварцман А. Л., Бреслер С. Е. (1971) *Молекулярн. биология*, **5**, 753—762.
12. Kyriakopoulos A., Subramanian A. R. (1977) *Biochim. et biophys. acta*, **474**, 308—311.
13. Турчинский М. Ф., Броуде Н. Е., Кусова К. С., Абдурашидова Г. Г., Будовский Э. И. (1977) *Биоорган. химия*, **3**, 1013—2020.

Поступило в редакцию 10.IV.1978

#### IDENTIFICATION OF PROTEINS INTERACTING WITH tRNA IN A- AND P-SITES OF *E. COLI* RIBOSOME

ABDURASHIDOVA G. G., TURCHINSKY M. F., SALIKHOV T. A., ASLANOV Ch. A.,  
BUDOWSKY E. I.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry,  
Academy of Sciences of the USSR, Moscow;  
Department of Bioorganic Chemistry  
Academy of Sciences of the Uzbek SSR, Tashkent*

As evidenced by ultraviolet-induced polynucleotide-protein cross-linking, tRNA located in the A-site (complex Phe-tRNA<sup>Phe</sup>.poly(U)·70S) interact with proteins S5, S7, S9/S11, S10, L2, L6, and L16, whereas tRNA in the P-site (complex Ac-Phe-tRNA<sup>Phe</sup>.poly(U)·70S) interact with proteins S7, S9/S11, L2, L4, L7/L12, L25/S17/S14.