



УДК 547.963.3

**БЕЛКИ БОЛЬШОЙ 50S СУБЧАСТИЦЫ РИБОСОМ *E. coli*,
РАСПОЛОЖЕННЫЕ ВБЛИЗИ мРНК-СВЯЗЫВАЮЩЕГО УЧАСТКА
РИБОСОМЫ***Кобец Н. Д., Карнова Г. Г.**Институт органической химии Сибирского отделения
Академии наук СССР, Новосибирск*

Ранее нами было показано, что алкилирующие аналоги мРНК-2', 3'-О-[4-(N-2-хлорэтил-N-метиламино)бензилиден]овые производные олигоуридилатов $((pU)_n pU[^{14}C]RCI$, где $n=4, 5, 6, 7$) [1] специфически модифицируют 30S рибосомные субчастицы *E. coli*, на которых, по современным представлениям, локализован мРНК-связывающий участок рибосомы. Специфичность реакции по мРНК-связывающему центру была доказана ингибированием реакции полиуридиловой кислотой. В случае производных гекса- и октауридилатов наблюдали значительную специфическую модификацию и большой 50S субчастицы, в составе которой модификация подвергалась в основном рибосомные белки.

Цель данной работы — выявление рибосомных белков 50S субчастиц, алкилируемых аналогами мРНК, которые, по-видимому, расположены на участке 50S субчастицы, непосредственно контактирующем с мРНК-связывающим центром рибосомы.

Рибосомы *E. coli* MRE-600, тРНК *E. coli* — продукты СКТБ БАВ г. Новосибирска, 30S и 50S рибосомные субчастицы выделяли из рибосом центрифугированием в градиенте концентрации сахарозы (10–30%) в буфере следующего состава: 0,05 М трис-НСl, 0,1 М NH₄Cl, $5 \cdot 10^{-4}$ М MgCl₂, pH 7,5, как ранее описано [2]. Производные олигоуридилатов удельной активности 15 Ки/ммоль синтезировали согласно [3]. Комплекс «рибосома — $(pU)_n pURCI$ — тРНК» получали в соответствии с работой [1] и отделяли от несвязавшегося олигонуклеотида гель-фильтрацией на колонке G-50 в 0,1 М трис-НNO₃, содержащем 0,05 М NH₄NO₃ и 0,03 М Mg(NO₃)₂. Для алкилирования рибосом раствор тройного комплекса выдерживали 24 ч при 25° С.

По окончании реакции из модифицированных рибосом выделяли субчастицы аналогично работе [4]. Рибосомные белки выделяли из субчастиц экстракцией 6 М LiCl в 10 М мочеvine, как описано ранее [1]. Ковалентно присоединенный олигонуклеотид отщепляли от белков инкубацией при pH 4 и 40° С в течение 1 ч.

Анализ модифицированных белков проводили двумерным электрофорезом в полиакриламидном геле по Говарду и др. [6]. Пятна, соответствующие белкам, вырезали, элюцию белков с геля вели 0,5% додецилсульфатом натрия и считали радиоактивность в диоксановом сцинтиллаторе.

Оказалось, что при использовании в качестве аналога мРНК $(pU)_n pURCI$

модификации в основном подвергаются белки L7/L12, L1 и L19 (соответственно 770, 240 и 220 имп/мин), а в случае (pU)₇pURCl радиоактивная метка обнаружена преимущественно во фракциях белков L19, L32 и L6 (соответственно 320, 620 и 650 имп/мин)*. По нашему мнению, белки, подвергаемые химической атаке достаточно короткими алкилирующими аналогами мРНК, должны быть белками участка 50S субчастицы, контактирующего с мРНК-связывающим центром рибосомы. Действительно, известно, что по крайней мере белки L1 [7], L19 [8], L32 [9] находятся в области контакта рибосомных субъединиц и не относятся к основной группе белков пептидилтрансферазного центра (L2, L11, L16, L27) [10, 11].

ЛИТЕРАТУРА

1. Будкер В. Г., Кобец Н. Д., Коллекционер И. Е., Карпова Г. Г., Гринева Н. И. (1980) Молекулярн. биология, 14, 507-516.
2. Gavrilova L. P., Ivanov D. K., Spirin A. S. (1966) J. Mol. Biol., 16, 473-489.
3. Будкер В. Г., Гимаутдинова О. И., Карпова Г. Г., Кобец Н. Д., Теплова Н. М. (1976) Молекулярн. биология, 10, 340-345.
4. Luhrmann R., Gassen H. G., Stoffler G. (1976) Eur. J. Biochem., 66, 1-9.
5. Власов В. В., Гринева Н. И., Зарытова В. Ф., Кнорре Д. Г. (1970) Молекулярн. биология, 4, 201-204.
6. Howard G. A., Traut R. R. (1973) FEBS Lett., 29, 177-180.
7. Kazemic M. (1975) Eur. J. Biochem., 58, 501-510.
8. Litman D. J., Beckman A., Cantor C. R. (1976) Arch. Biochem. and Biophys., 174, 523-531.
9. Sander G. (1977) FEBS Lett., 83, 293-296.
10. Hsiung N., Reines S. A., Cantor C. R. (1974) J. Mol. Biol., 88, 841-855.
11. Eilat D., Pellegrini M., Oen H., De Groot N., Lapidot Y., Cantor C. R. (1974) Nature, 250, 514-516.

Поступило в редакцию
17.IV.1980

THE PROTEINS OF 50S SUBUNIT OF *E. COLI* RIBOSOMES LOCATED NEAR THE mRNA-BINDING CENTER

КОВЕТС Н. Д., КАРПОВА Г. Г.

Institute of Organic Chemistry, Siberian Branch of the Academy of Sciences of the USSR, Novosibirsk

4-(N-2-chloroethyl-N-methylamino)benzylidene derivatives of hexauridylic and octauridylic acids were used to localize the proteins organizing the mRNA-binding site of ribosome. Using the method of two-dimensional electrophoresis in polyacrylamide gel, the proteins of 50S subunit which are labeled by the mRNA analogs were identified as L7/L12, L1, L19, L32 and L6. These proteins are assumed to occupy the site which is in direct contact with the mRNA-binding center of ribosomes.

* Фошвая радиоактивность ~20 имп/мин.