



УДК 547.963.32.02

ПЕРВИЧНАЯ СТРУКТУРА *MspI*-ФРАГМЕНТОВ ДНК
ФАГА T7 В РАЙОНЕ ГЕНА 1

Грачев М. А., Шлетнев А. Г.

Новосибирский институт органической химии СО Академии наук СССР

Ген 1 фага T7 кодирует фагоспецифичную РНК-полимеразу [1]. В нашей лаборатории начато установление первичной структуры этого гена [2]. В настоящем сообщении приводятся структуры *MspI*-фрагментов ДНК фага T7, картированных в районе гена 1 в работе [3]. Эти структуры и полученная в настоящей работе дополнительная информация дают возможность изобразить непрерывную последовательность в левой половине гена 1.

Схема секвенирующих экспериментов показана на рис. 1. Для приготовления фрагментов T7 ДНК использовали рестриктазы *BspI* (сайты картированы в работе [2]) и *MspI* (сайты картированы в работе [3]). Введение радиоактивной метки с помощью полинуклеотидкиназы, специфичные химические реакции и гель-электрофорез проводили по Максаму и Гилберту [4] в описанных ранее модификациях [5, 6]. Установленная первичная структура показана на рис. 2. Этот участок находится между 7 и 11% длины генома T7. Последовательность между остатками 110 и 490 совпадает, за исключением небольшого числа замен пиримидинов, с опубликованной ранее Мак-Коннелом [7]. По данным [7], в положении 316 находится остаток аденозина иницирующего триплета, кодирующего N-концевой метионин РНК-полимеразы T7. Левее этого участка имеется тетрапептид GAGG, комплементарный рибосомной РНК. Последовательность от остатка 316 до конца расшифрованного нами участка гена 1 транскрибируется в белок без разрывов, причем только в одной рамке — в двух других рамках встречается множество терминаторов.

Установленная первичная структура содержит все картированные на этом участке [2, 3, 7] рестрикционные сайты и не содержит лишних сайтов, за исключением сайта *HhaI* в области 609—613, который, видимо, был упущен при картировании в работе [3], потому что он находится всего в 9 п. о. от сайта *HhaI* 600—604.

Приведенная нами в работе [2] последовательность фрагмента *Bsp-36* полностью отличается от вновь найденной в настоящей работе, что явилось, видимо, следствием допущенной ранее технической ошибки. Анализ первичных структур фрагментов *Bsp-34*, *Bsp-35*, *Bsp-31*, мигрирующих при электрофорезе вблизи фрагмента *Bsp-36*, показал, что структура, приписанная последнему в работе [2], не принадлежит ни одному из них.

Однако приведенная в работе [2] карта *BspI*-сайтов полностью подтверждается данными настоящей работы, а также данными других исследователей [3].



Рис. 2. Установленная в настоящей работе первичная структура левой половины гена 1 Т7 ДНК

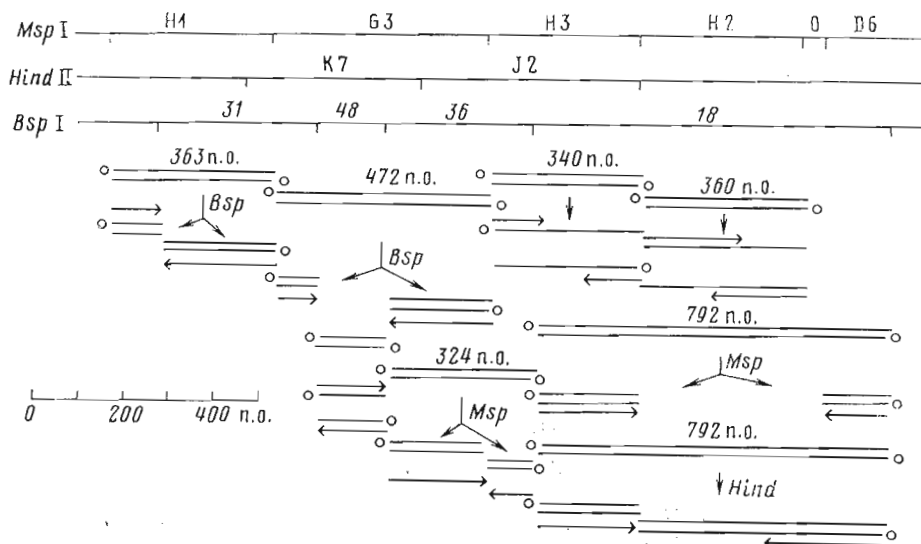


Рис. 1. Рестрикционные карты в районе гена 1 Т7 ДНК и стратегия расшифровки. *Msp*I, *Hind*II-сайты — по [3], *Bsp*I-сайты — по [2]. ○ — радиоактивный 5'-концевой фосфатный остаток, п.о. — пары оснований

По-видимому, стартовая точка белка гена 1, предложенная Мак-Коннелом [7] на основании известной* структуры N-конца Т7 РНК-полимеразы Met-Asn-Thr, верна, так как все прочие возможные белковые старты не дают такой последовательности аминокислот. Таким образом, к настоящему времени известна приблизительно половина первичной структуры Т7 РНК-полимеразы.

Авторы выражают глубокую признательность Т. Г. Максимовой за препараты Т7 ДНК, М. П. Перельройзену за машинную обработку последовательностей, В. Г. Коробко, А. И. Закабунину и С. В. Нетесову за препараты рестриктаз.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chamberlin M., McGrath J., Waskell L. (1970) *Nature*, **228**, 227–231.
2. Грачев М. А., Зайчиков Е. Ф., Максимова Т. Г., Плетнев А. Г. (1979) *Биоорганическая химия*, **5**, 1587–1590.
3. Studier F. W., Rosenberg A. H., Simon M. N., Dunn J. J. (1979) *J. Mol. Biol.*, **135**, 907–915.
4. Maxam A. M., Gilbert W. (1977) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **74**, 560–564.
5. Коробко В. Г., Грачев С. А. (1977) *Биоорганическая химия*, **3**, 1420–1422.
6. Коробко В. Г., Грачев С. А., Колосов М. Н. (1978) *Биоорганическая химия*, **3**, 1281–1283.
7. McConnell D. J. (1979) *Nucl. Acids Res.*, **6**, 3491–3503.

Поступило в редакцию
25.VI.1980

THE PRIMARY STRUCTURE OF *Msp*I FRAGMENTS OF T7 PHAGE DNA IN THE REGION OF GENE 1

GRACHEV M. A., PLETNEV A. G.

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

Sequencing of T7 DNA restriction fragments mapped in the region of gene 1 allowed to determine the structure of the left half of this gene. The structure attributed to fragment *Bsp*-36 in our previous publication belongs in fact to some other fragment. The structure of the left half of gene 1 now presented is in accord with the data of other workers who sequenced a few regions of it, as well as with restriction maps. The sequence is translatable into protein without termination, but only in a single frame.

* Частное сообщение J. Oakley, цит. по [7].