



УДК 547.963.32.02

НУКЛЕОТИДНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ГЕНА 0.4
БАКТЕРИОФАГА Т7

Коробко В. Г., Чувпило С. А., Колосов М. Н.

Институт биоорганической химии им. М. М. Шеманина
Академии наук СССР, Москва

Рестрикционная нуклеаза *Hae*III отщепляет от левого конца ДНК фага Т7 фрагмент длиной около 1400 нуклеотидных пар (первоначально его величина оценивалась приблизительно в 1300 н.п. [1]), который содержит несколько функционально важных элементов фаговой хромосомы. Ранее нами была выяснена структура двух из них: левого концевго повтора (159 н.п. [2]) и промоторной области A_1 – A_3 ранних генов (465 н.п. [3]). В развитие этих исследований мы определили 290-нуклеотидную последовательность правой части рестрикта *Hae*III-1400, в которой находится ген 0.4.

При картировании фрагмента *Hae*III-1400 мы обнаружили в нем четыре сайта *Hha*I, два из которых расположены в секвенированной нами ранее промоторной области A_1 – A_3 [3], а два других находятся на расстоянии 116 и 285 нуклеотидов (считая по месту расщепления *I*-цепи) от правого конца фрагмента, т. е. от середины сайта *Hae*III. Соответствующие субфрагменты *Hha*I-169 и *Hha*I/*Hae*III-116 были выделены электрофорезом в 5% полиакриламидном геле, термически денатурированы в 50% диметилсульфоксиде, разделены на комплементарные цепи электрофорезом в том же геле и проанализированы модифицированным методом Максама — Гилберта [4, 5].

Установленная в результате этой работы нуклеотидная последовательность ДНК изображена на рисунке, где приведены также литературные данные о структуре двух участков ранних мРНК фага Т7. Сопоставление этих дезокси- и рибо-последовательностей показывает, что сегмент ДНК 79–108 отвечает участку *b* связывания рибосомы мРНК гена 0.3 [6], а сегмент 240–290 точно соответствует 50-членной последовательности РНК, предшествующей на 5 нуклеотидов сайту РНКазы III между генами 0.3 и 0.7 [7]. Таким образом, исследованные нами фрагменты ДНК содержат ту часть ранней области фага Т7, которая сначала считалась дистальной частью гена 0.3 и в которой затем был идентифицирован самостоятельный ген 0.4 [8]. Как видно из этой последовательности, ее первые 105 н.п. принадлежат гену 0.3, терминирующий кодон которого перекрывается одним нуклеотидом с иницирующим кодоном гена 0.4. Наши результаты совпадают с цитируемыми в статье [9] неопубликованными данными Дарна о том, что ген 0.4 оканчивается тандемом терминирующих триплетов за 38 н.п. до сайта РНКазы III, но отличаются от них тем, что этот ген должен кодировать белок длиной 51, а не 50 аминокислотных

AlaArgIleTyrGluGlnLeuThrIleAspLeuTrpGluAspAlaGluAspLeuLeuAsn
 Iha I 50
 GCGCGTATCTATGAGCAATTAACGATTGACCTCTGGGAAGACGCAGAAGACTTGCTCAAT
 CGCGCATAGATACTCGTTAATTGCTAACTGGAGACCCTTCTGCGTCTTCTGAACGAGTTA
 ----- ген 0.3 ----- |----- ген 0.4 -----
 GluTyrLeuGluGluValGluGluTyrGluGluAspGluGluTER
 fMetSerThrIhrAsn
 100
 GAATACTGGAGGAAGTCGAGGAGTACGAGGAGGATGAAAGAGTAATGTCTACTACCAAC
 CTTATGAACCTCTTCAGCTCCTCATGCTCCTCTACTTCTCATTACAGATGATGGTTG
 (GAGGAGUACGAGGAGGAUGAAGAGUAAUGU)

 ValGlnTyrGlyLeuThrAlaGlnThrValLeuPheTyrSerAspMetValArgCysGly
 150 Hha I
 GTGCAATACGGTCTGACCGCTCAAACGTACTTTTCTATAGCGACATGGTGGCGTGTGGC
 CACGTTATGCCAGACTGGCGAGTTTGACATGAAAAGATATCGCTGTACCACGCGACACCG

 PheAsnTrpSerLeuAlaMetAlaGlnLeuLysGluLeuTyrGluAsnAsnLysAlaIle
 200 Alu I
 TTTAACTGGTCACTCGCAATGGCACAGCTCAAAGAAGTGTACGAAAACAACAAGGCAATA
 AAATTGACCAGTGAGCGTTACCGTGTGAGTTTCTTGACATGCTTTTGTGTCCGTTAT

 AlaLeuGluSerAlaGluTERTER
 Alu I 250 Hae III
 GCTTTAGAATCTGCTGAGTGATAGACTCAAGGTCGCTCCTAGCGAGTGGCC
 CGAAATCTTAGACGACTCACTATCTGAGTTCACGCGAGGATCGCTCACCGG
 (GCUUUAGAUCUGCUGAGUGAUAGACUCAAGGUCGCUCCUAGCGAGUGGCCUUUUU|GAU)
 RNase III

Нуклеотидная последовательность гена 0.4, дистальной части гена 0.3 и аминокислотная последовательность кодируемых ими белков бактериофага T7. Указано положение сайтов рестриктаз *Iha*I, *Alu*I, *Hae*III и РНКазы III. В скобках приведены литературные данные о структуре ранних мРНК фага T7 в участке *b* связывания рибосомы [6] и перед сайтом РНКазы III [7]

остатков. Возможно, N-концевой формилметионин отщепляется при процессинге продукта гена 0.4, как это обычно происходит с другими белками в *E. coli*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коробко В. Г., Чувпило С. А., Колосов М. Н., Грачев М. А., Зайчиков Е. Ф., Плетнев А. Г. (1978) *Биоорганическая химия*, 4, 1132-1134.
2. Коробко В. Г., Грачев С. А., Колосов М. Н. (1978) *Биоорганическая химия*, 4, 1690-1691.
3. Коробко В. Г., Чувпило С. А., Грачев С. А., Колосов М. Н., Грачев М. А., Зайчиков Е. Ф., Плетнев А. Г. (1978) *Биоорганическая химия*, 4, 1692-1694.
4. Коробко В. Г., Грачев С. А. (1977) *Биоорганическая химия*, 3, 1420-1422.
5. Коробко В. Г., Грачев С. А., Колосов М. Н. (1978) *Биоорганическая химия*, 4, 1281-1283.
6. Steitz J. A., Bryan B. A. (1977) *J. Mol. Biol.*, 114, 527-543.
7. Rosenberg M., Kramer R. A. (1977) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 74, 984-988.
8. Dunn J. J., Buzash-Pollert E., Studier F. W. (1978) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 75, 2741-2745.
9. Studier F. W., Rosenberg A. H., Simon M. N., Dunn J. J. (1979) *J. Mol. Biol.*, 135, 917-937.

Поступило в редакцию
 24.III.1980

THE NUCLEOTIDE SEQUENCE OF GENE *0.4* OF BACTERIOPHAGE T7

KOROBKO V. G., CHUVPILO S. A., KOLOSOV M. N.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry,
Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

A left terminal *Hae*III restriction fragment (ca. 1400 b. p.) of T7 DNA was digested with endonuclease *Hha*I to produce five subfragments two of which (the rightmost and the next ones) were structurally analysed by a modified Maxam-Gilbert method. The 290-membered DNA sequence thus determined (Fig. 1) encompasses a distal part of gene *0.3* and the whole gene *0.4*, the latter having been identified by comparison with published *0.3* mRNA sequences of the ribosome binding site *b* [6] and of the RNaseIII cleavage site [7]. Our results agree well with unpublished data of Dunn (cited in [9]) excepting the coding capacity of gene *0.4* which should be 51 rather than 50 amino acid residues.
