



## ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 547.963.32.02

СТРУКТУРА РЕГУЛЯТОРНОГО УЧАСТКА ЦИСТРОНА  
РЕПЛИКАЗЫ ФАГА *fr*Берзинь В. М., Грибанов В. А., Циеленс Ш. Э.,  
Лисие И. В., Грен Э. Я.

Институт органического синтеза Академии наук ЛатвССР, Рига

В настоящее время подробно изучена структурно-функциональная организация нетранслируемого регуляторного участка РНК фагов R17 и MS2, контролирующего инициацию трансляции цистрона репликазы [4–7]. Поскольку аминокислотная последовательность белка оболочки фага *fr* отличается от аминокислотной последовательности остальных фагов первой серологической группы (MS2, R17, f2) [8, 9], можно ожидать определенных структурных различий не только в кодирующих, но и в регуляторных участках РНК фага *fr*. В данной работе установлена первичная структура фрагмента РНК *fr*, содержащего полный регуляторный участок цистрона репликазы, и проведено сравнение с известной последовательностью соответствующего района в РНК MS2.

В результате обработки РНКазой  $T_1$  репрессорного комплекса РНК *fr* — белок оболочки *fr* был выделен ряд специфических фрагментов РНК, предохраняемых белком оболочки от расщепления [5]. Для определения их первичной структуры использовались: а) двумерное разделение при-мидил-РНКазных и  $T_1$ -РНКазных гидролизатов  $^{32}P$ -меченых фрагментов с последующим анализом последовательностей олигонуклеотидов [10, 11], б) электрофорез частичных РНКазных гидролизатов  $5'$ - $^{32}P$ -меченых фрагментов в полиакриламидном геле [12]. На схеме приведена нуклеотидная последовательность специфического фрагмента *fr*R(–53→35) длиной в 88 нуклеотидов, который содержит 17 нуклеотидов  $3'$ -концевой части цистрона белка оболочки, 36 нуклеотидов межцистронового регуляторного участка и 35 начальных нуклеотидов цистрона репликазы. По сравнению с первичной структурой соответствующего участка в РНК MS2 фрагмент *fr*R(–53→35), имеющий ту же длину межцистронового района, содержит 13 нуклеотидных замен\*, шесть из которых локализованы в кодирующих последовательностях цистронов белка оболочки и репликазы. Однако наблюдаемые замены в цистронах характерны только для третьей буквы триплетов и не приводят к миссенс-мутациям. Единственное исключение — трансверсия  $A_{10} \rightarrow U_{10}$ , но и в этом случае Thr(MS2) заменяется на сходную аминокислоту Ser(*fr*).

\* На схеме нуклеотидные замены в последовательности РНК подчеркнуты волнистой линией; аминокислоты, различающиеся в последовательностях *L*-белка и репликазы фагов *fr* и MS2, подчеркнуты; двойной чертой подчеркнуты терминирующие и иницирующие кодоны.

	-50		+1	+30
<i>frR</i>	...CGA <u>ACUCGGGA</u> AAUCU <u>ACUAAAGA</u> A <u>CCCGUCCCA</u> UUC <u>CAACA</u> CGA <u>AGCA</u> AA <u>ACCC</u> A <u>UUCU</u> CAAA <u>U</u> CAACAAGAA <u>GC</u> UUA <u>CAACUCU</u> UU <u>AUG</u> ...			
MS2	...CA <u>AACUCGGG</u> CAUCU <u>ACUAA</u> AG <u>ACCGCG</u> CCCAUUC <u>CAACA</u> CGA <u>AGCA</u> AA <u>ACCC</u> A <u>UUCU</u> CAAGACA <u>CAACA</u> AGAA <u>GC</u> UUA <u>CAACUCU</u> UU <u>AUG</u> ...			
	125		1	10
<i>fr</i>	...Asn Ser Gly Ile Tyr		(Met Ser Lys Ser Thr Lys Lys Phe Asn Ser Leu...	
MS2	...Asn Ser Gly Ile Tyr		(Met Ser Lys Thr Thr Lys Lys Phe Asn Ser Leu...	
	Белок оболочки		репликаза	
<i>fr</i>	...Pro Thr Arg Glu Ser Thr Lys Lys Pro Val Pro Phe Gln His Glu Glu Tyr Pro Cys Gln Asn Gln Gln Arg Ser Ser Thr Leu Tyr...			
MS2	...Gln Thr Pro Ala Ser Thr Asn Arg Arg Arg Pro Phe Lys His Glu Asp Tyr Pro Cys Arg Arg Gln Gln Arg Ser Ser Thr Leu Tyr...	20	L-белок	30

Замены в межцистроном регуляторном участке вносят более существенные изменения в его структуру. Во-первых, трансверсия  $U_{-33} \rightarrow G_{-33}$  и транзация  $G_{-31} \rightarrow A_{-31}$  устраняют вторую после UAA терминирующей кодон UAG, характерный для цистрона белка оболочки РНК фагов R17 и MS2. Во-вторых, сгруппированные на 5'-конце регуляторного района (от  $G_{-25}$  до  $U_{-33}$ ) замены уменьшают прочность характерной для РНК R17 и MS2 шпильки «а» [2, 5]. Наконец, замены  $A_{-17} \rightarrow C_{-17}$ ,  $U_{-6} \rightarrow A_{-6}$ ,  $G_8 \rightarrow A_6$ ,  $G_9 \rightarrow A_9$  и  $A_{10} \rightarrow U_{10}$  локализованы в районе сайтов узнавания белка оболочки и связывания рибосомы [3, 6, 7].

Недавно появились сообщения [13-15], что в РНК фагов *f2* и MS2 наряду с тремя известными белками (для ссылок см. [16]) закодирован четвертый, минорный, так называемый лизис-белок (L-белок), цистрон которого (со сдвигом фазы +1) охватывает конец последовательности цистрона белка оболочки и начало цистрона репликазы. На схеме приведены аминокислотная последовательность участка L-белка MS2 и гипотетическая структура аналогичного участка, вытекающая из нуклеотидной последовательности фрагмента *frR*. Сравнение их показывает, что предполагаемые аминокислотные замены не эквивалентны. Более того, в нуклеотидной последовательности фага *fr*, судя по первичной структуре его белка оболочки, в той же фазе считывания +1 отсутствуют инициирующие триплеты AUG или GUG в участке, соответствующем N-концу L-белка MS2. Все сказанное свидетельствует о том, что на фоне общего сходства фагов MS2 и *fr* структура их L-белков должна существенно различаться, по крайней мере в N-концевой части молекулы. Это обстоятельство ставит дополнительные вопросы в отношении истинной функциональной роли L-белка РНК-содержащих фагов.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Bernardi A., Spahr P. F. (1972) Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 69, 3033-3037.
- Gralla J., Steitz J. A., Crothers D. M. (1974) Nature, 248, 204-208.
- Steitz J. A. (1974) Nature, 248, 223-225.
- Hilbers C. W., Shulman R. G., Yamane T., Steitz J. A. (1974) Nature, 248, 225-226.
- Berzin V., Borisova G. P., Cielens I., Gribov V. A., Jansone I., Rosenthal G., Gren E. J. (1978) J. Mol. Biol., 119, 101-131.
- Jansone I., Berzin V., Gribov V., Gren E. J. (1979) Nucl. Acids Res., 6, 1747-1760.
- Borisova G. P., Volkova T. M., Berzin V., Rosenthal G., Gren E. J. (1979) Nucl. Acids Res., 6, 1761-1774.
- Wittmann-Liebold B., Wittmann H. G. (1967) Mol. Gen. Genet., 100, 358-363.
- Lin J. Y., Tsung C. M., Fraenkel-Conrat H. (1967) J. Mol. Biol., 24, 1-14.
- Brownlee G. G. (1972) in: Determination of Sequences in RNA, pp. 67-99, North-Holland, Amsterdam.
- Volckaert G., Min Jou W., Fiers W. (1976) Anal. Biochem., 72, 433-446.
- Simoncsits A., Brownlee G. G., Brown R. S., Rubin J. R., Guillely H. (1974) Nature, 269, 833-836.
- Model P., Webster R. E., Zinder N. D. (1979) Cell, 18, 235-246.
- Atkins J. F., Steitz J. A., Anderson C. W., Model P. (1979) Cell, 18, 247-256.
- Beremand M. N., Blumenthal T. (1979) Cell, 18, 257-266.
- Zinder N. D., ed. (1975) RNA Phages, Cold Spring Harbor Lab., Cold Spring Harbor, N. Y.

Поступило в редакцию  
12.VIII.1980

THE NUCLEOTIDE SEQUENCE OF THE REGULATORY REGION  
OF PHAGE *φr* REPLICASE CISTRON

BERZIN V. M., GRIBANOV V. A., CIELENS I. E., JANSONE I. V., GREN E. J.

*Institute of Organic Synthesis, Academy of Sciences  
of the Latvian SSR, Riga*

The nucleotide sequence of specific fragment of phage *φr* RNA protected by coat protein has been determined. The fragment is 88 nucleotide long and contains 17 3'-terminal nucleotides of coat protein cistron, the complete intercistronic regulatory region (36 nucleotides) and 35 nucleotides from the beginning of the replicase cistron. A comparison between the sequences of corresponding regions from phage *φr* and MS2 RNA's reveals 13 base substitutions, 7 of them being in the intercistronic region.

---