



ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 577.217(532+534)

Мст

ИЗМЕНЕНИЕ КОНФОРМАЦИИ СУБЧАСТИЦ
И ИХ ВЗАИМНОГО РАСПОЛОЖЕНИЯ ПРИ ПЕРЕХОДЕ
ОТ ПРЕТРАНСЛОЦИРОВАННОГО СОСТОЯНИЯ
К ПОСТТРАНСЛОЦИРОВАННОМУ

Абдурашидова Г. Г., Цветкова Е. А., Будзевский Э. И.

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

Одним из этапов элонгации трансляции является транслокация — сопряженное перемещение мРНК по рибосоме и пептидил-тРНК из А- в Р-участок. Очевидно, что это перемещение сопровождается перестройкой высшей структуры трансляционного комплекса, что может, в частности, отразиться на внутри- и межсубчастичных РНК-белковых взаимодействиях.

Для определения этих взаимодействий в рибосомных комплексах до и после транслокации мы использовали УФ-индуцированное образование РНК-белковых сшивок, возникающих только между непосредственно взаимодействующими компонентами макромолекул [1].

Препарат 70S рибосом *E. coli* MRE-600 (обозначен ниже А), активный на 85—90% в связывании Phe-тРНК^{Phe} и Ac-Phe-тРНК^{Phe} в присутствии poly(U), получен по методике [2].

Рибосомные комплексы 70S·poly(U)·Ac-Phe-тРНК^{Phe} (комплекс В, соответствующий посттранслоцированному состоянию, соотношение компонентов 70S и Ac-Phe-тРНК^{Phe} составляло 1:0,9) и 70S·poly(U)·Ac-Phe-Phe-тРНК^{Phe}·тРНК^{Phe} (комплекс В, соответствующий претранслоцированному состоянию, соотношение компонентов 70S и Ac-Phe-Phe-тРНК^{Phe} составляло ~1:0,8) получали по методике [3].

Свежеполученные комплексы облучали по стандартной методике [4] (доза 20—30 квантов на нуклеотид). Облученные комплексы осаждали двумя объемами спирта, растворяли в буфере, содержащем додецилсульфат натрия и EDTA, и разделяли 23S и 16S РНК с помощью электрофореза в 4% полиакриламидном геле в денатурирующих условиях. Участки геля, содержащие 23S и 16S РНК, иодировали (¹²⁵I) в присутствии хлорамина Т и обрабатывали смесью рибонуклеаз А и Т₁. Меченые белки, содержащие пришитые олигонуклеотидные фрагменты, разделяли электрофоретически по методике [5]. Распределение радиоактивности в геле определяли как описано в работе [6]. Идентификацию ¹²⁵I-меченых белков, пришитых к 23S и 16S РНК, проводили сопоставлением положения радиоактивных продуктов с положением рибосомных белков, разделенных в этой же системе и окрашенных кумасси. Идентификация белков, пришитых к каждой из высокомолекулярных РНК (таблица), позволяет определить как внутри-, так и межсубчастичные РНК-белковые контакты.

Как видно из таблицы, внутрисубчастичные РНК-белковые контакты (контакты 16S РНК с белками 30S субчастицы и 23S РНК с белками 50S субчастицы) существенно меняются при переходе от свободной 70S рибосомы (А) к комплексам В и В, что отражает изменение конформации рибосомных субчастиц при изменении функционального состояния транслирующей рибосомы. Очевидно, что белки 30S субчастицы, пришиваю-

Межсубчастичные РНК-белковые спивки, образующиеся при УФ-облучении (254 нм) свободной 70S рибосомы *E. coli* (A), посттранслоцированного (B) и претранслоцированного (B) рибосомных комплексов

Цифры в таблице — процент радиоактивности в данном белке по отношению к радиоактивности всех белков, пришитых к соответствующей РНК.
a-ε — группы белков, недостаточно четко разделяющиеся при электрофорезе

Комп- лексы	РНК	Белки субчастиц, пришивающиеся к 23S и 16S РНК																		
		S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S18	S19	S20 L26	S21		
A	16S		11			22		8 ^a		6 ^ε				3	5		10 ^a			
	23S		4	7		3		6 ^a	2		5 ^ε			4	6		9 ^a			
B	16S	6	14		9	28	5	7 ^a		7 ^a	5	4 ^ε	6	6		7 ^a				
	23S					2		7					8			6 ^a				
B	16S		6		9	20		5 ^a		5 ^a	2 ^ε	2 ^ε	6	3	2	9 ^a				
	23S				8	2		10		10	9 ^a	9 ^a		3		12 ^ε				

Белки 50S субчастицы

Комп- лексы	РНК	Белки 50S субчастицы																		
		L1	L2	L3	L4	L5	L6	L9	L10	L11	L13	L16	L19	L20	L27	L30	L32	L33		
A	16S	4				3	1	8		9		3	5							
	23S	11	15	2	9	3	4	12							7 ^ε					
B	16S	8				5		10		10	1				5 ^ε					
	23S	10	17	6	11	6		10	2						4 ^ε					
B	16S	8				5		8							2 ^ε					
	23S	12	14		10			9					7	10	9 ^a	5	4	2		

щаются к 23S РНК, и белки 50S субчастицы, пришивающиеся к 16S РНК, участвуют в межсубчастичных РНК-белковых взаимодействиях.

Сравнение полученных результатов по межсубчастичным контактам с данными по локализации белков на поверхности субчастиц рибосом *E. coli* [7-9] показывает, что во всех исследованных функциональных состояниях сохраняются межсубчастичные РНК-белковые контакты, локализованные в левой части межсубчастичной поверхности 70S рибосомы, т. е. в районе L1 выступа 50S субчастицы (белки S6, S7, S11, S15, L1, L9, L27). Переход от претранслоцированного состояния к посттранслоцированному приводит к уменьшению набора межсубчастичных РНК-белковых контактов (исчезают шпиквы 23S РНК с белками S13, S14, S18 и 16S РНК с белками L5, L19, L20, L30, L32, расположенными в правой части межсубчастичной поверхности рибосомы).

Такое изменение межсубчастичных взаимодействий может рассматриваться как довод в пользу гипотезы А. С. Спирина [10] о смыкании и размыкании субчастиц в процессе трансляции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Budowsky E. I. In: Trends in photobiology / Eds Helene C., Charlier M., Montenay-Garestier Th., Laustriat G. N. Y. - L.: Plenum Press, 1982, p. 93-108.
2. Семенов Ю. А., Мажно В. И., Кириллов С. В. Молекулярн. биология, 1976, т. 10, № 4, с. 754-763.
3. Semenov Yu. P., Makarov E. M., Makhno V. I., Kirillov S. V. FEBS Lett., 1982, v. 144, № 1, p. 125-129.
4. Abdurashidova G. G., Turchinsky M. F., Budowsky E. I. FEBS Lett., 1981, v. 129, № 1, p. 59-61.
5. Metz L. Y., Vogorad L. Analyt. Biochem., 1974, v. 57, № 1, p. 200-210.
6. Завесский Ю. В., Иванов А. Б., Каминир Л. Б., Крейндин Э. Я., Мовчан С. А., Пешехонов В. Д., Чан Дык Тхай, Черненко С. П., Черный А. А. Препринт ОИЯИ, 1983, № 18-83-5, Дубна.
7. Price I. B., Guttle R. R., Garrett R. A. TIBS, 1983, v. 8, № 10, p. 359-363.
8. Stöffler-Meilicke M., Epe B., Steinhäuser U. G., Woolley P., Stöffler G. FEBS Lett., 1983, v. 163, № 1, p. 93-98.
9. Winkelmann D. A., Kahan L., Lake L. A. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1982, v. 79, № 3, p. 5184-5188.
10. Спирин А. С. Докл. АН СССР, 1968, т. 179, № 3, p. 1467-1470.

Поступило в редакцию
17.X.1984

TRANSITION FROM PRETRANSLATED TO POSTTRANSLATED STATE IS ACCOMPANIED BY A CHANGE OF SUBUNITS CONFORMATION AND THEIR MUTUAL DISPOSITION

ABDURASHIDOVA G. G., TSVETKOVA E. A., BUDOWSKY E. I.

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

RNA-protein contacts in pretranslocated and posttranslocated states of *E. coli* ribosomes have been determined by means of UV-induced cross-linking. In the two functional states as well as in free 70S ribosome, the same proteins are involved in RNA-protein intersubunit contacts, located in the region of L1 protuberance (left side of 70S ribosome). The transition from pre- to posttranslocated state is accompanied by disappearance of RNA-protein contacts in the region of L7/L12 stalk. This favours the locking-unlocking model of the translating ribosome.