



УДК 577.214.622 : 579.841.51'112

КЛОНИРОВАНИЕ ГЕНА РИБОСОМНОГО БЕЛКА HS4 АРХЕБАКТЕРИИ *HALOBACTERIUM HALOBIIUM*

*Спиридонова В. А., Каграманова В. К., Баратова Л. А.,
Голова Ю. В.*, Чекулаева Л. Н.***, Манькин А. С.*

*Межфакультетская проблемная научно-исследовательская лаборатория
молекулярной биологии и биоорганической химии им. А. Н. Белозерского МГУ;*

** Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва;*

*** Институт биофизики Академии наук СССР, Пушкино-на-Оке Московской обл.*

Согласно современным представлениям, архебактерии наряду с эубактериями и эукариотами составляют третье эволюционное царство и обладают рядом принципиальных особенностей в хранении и реализации генетической информации [1]. Этим объясняется большой интерес к изучению основных внутриклеточных процессов (транскрипция, трансляция и др.) в этих организмах. Исследование белоксинтезирующего аппарата архебактериальной клетки было до сих пор сконцентрировано в основном на структуре рРНК и их генов [2—7]. Полученные данные [3—5] позволяют предположить, что структура этих генов и их экспрессия имеют ряд особенностей по сравнению с эубактериями и эукариотами. В то же время почти ничего не известно о генах рибосомных белков архебактерий. Данные об их аминокислотных последовательностях отрывочны: для нескольких белков установлены лишь короткие N-концевые последовательности, а полные первичные структуры определены только для двух белков [8—10].

Ранее в нашей лаборатории была определена полная нуклеотидная последовательность единственного оперона рРНК экстремальной галофильной архебактерии *Halobacterium halobium* [6, 11, 12]. В рамках исследования структуры рибосом архебактерий и изучения закономерностей координированного биосинтеза их компонентов нами предпринято клонирование гена рибосомного белка HS4 *H. halobium*, входящего в группу белков, наиболее прочно связанных с рибосомными РНК [13].

Основой для конструирования олигонуклеотидного зонда, использованного для поиска гена этого белка, явилась определенная ранее [10] последовательность 30 N-концевых аминокислот белка HS4 из родственной архебактерии *Halobacterium cutirubrum*. Исходя из этой аминокислотной последовательности наиболее предпочтительным зондом с точки зрения длины и вырожденности представлялась смесь олигонуклеотидов следующего состава (здесь и далее префикс «d» опущен):

ATC	GAC	GAG	TTC	TTC	GC
T	T	A	T	T	
	A				
Phe	Asp	Glu	Phe	Phe	Ala
16	17	18	19	20	21

Для уменьшения вырожденности зонда (64 варианта) была использована таблица частот встречаемости кодонов в единственном известном к началу работы гене архебактериального белка — бактериоопсина из *H. halobium* [14]. Хотя в бактериоопсине изолейцин встречается 15 раз, а фенилаланин — 13, в его гене для этих аминокислот используются соответственно только кодоны ATC и TTC. Учитывая, что ген бактериоопсина и гены рибосомных белков относятся к активно экспрессируемым генам клетки, можно было ожидать, что частоты встречаемости кодонов в них

HS4 начинается с AUG за три нуклеотида до кодона, соответствующего N-концевой аминокислоте белка.

Интересно, что за 7 нуклеотидов до инициаторного кодона AUG имеется 9-членная нуклеотидная последовательность, строго комплементарная 3'-концу 16S РНК *H. halobium*. Ранее, при анализе первичной структуры этой 16S рРНК, нами было высказано предположение, что при инициации трансляции у архебактерий работает механизм, аналогичный эубактериальному, основанному на комплементарности 3'-конца 16S РНК и мРНК в районе связывания рибосом (последовательность Шайн-Дальгарно) [19]. Наличие аналогичной комплементарности между мРНК HS4 белка и 16S рРНК *H. halobium* может служить аргументом в пользу предполагаемого сходства механизмов инициации трансляции у архе- и эубактерий.

В настоящее время проводится установление полной нуклеотидной последовательности гена белка HS4 *H. halobium*.

Авторы выражают признательность И. М. Зыряновой за помощь в работе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Woese C. R. // Sci. Am. 1981. V. 7. № 1. P. 94-106.
2. Neumann H., Gierl A., Tu J., Leibrock J., Staiger D., Zillig W. // Mol. and Gen. Genet. 1983. V. 192. № 1. P. 66-72.
3. Прангишвили Д. А. // Молекуляр. биология. 1983. Т. 17. № 2. С. 234-248.
4. Hoffman J. D., Lau R. H., Doolittle W. F. // Nucl. Acids Res. 1979. V. 7. № 4. P. 1321-1333.
5. Hui J., Dennis P. P. // J. Biol. Chem. 1985. V. 260. № 3. P. 899-906.
6. Каграманова В. К., Манькин А. С., Тетерина Н. Л., Рубцов П. М., Копылов А. М., Баратова Л. А., Богданов А. А. // Биоорг. химия. 1985. Т. 11. № 4. С. 516-522.
7. Jorsch M., Böck A. // Mol. and Gen. Genet. 1985. V. 200. № 2. P. 305-312.
8. Kimura M., Langner G. // FEBS Lett. 1984. V. 175. № 2. P. 203-218.
9. Arndt E., Breithaupt G., Kimura M. // FEBS Lett. 1986. V. 194. № 2. P. 227-234.
10. Yaguchi M., Visentin L. P., Zuker M., Matheson A. T., Roy C., Strom A. R. // Zbl. Bact. Hyg. 1. 1982. Abt. Orig. C3. S. 200-208.
11. Mankin A. S., Kagramanova V. K. // Mol. and Gen. Genet. 1986. V. 202. № 1. P. 152-161.
12. Mankin A. S., Teterina N. L., Rubtsov P. M., Baratova L. A., Kagramanova V. K. // Nucl. Acids Res. 1984. V. 12. № 17. P. 6537-6546.
13. Visentin L. P., Chow C., Matheson A. T., Yaguchi M., Rollin F. // Biochem. J. 1972. V. 130. № 1. P. 103-110.
14. Dunn R., McCoy J., Simsek M., Majumdar A., Chang S. H., RajBhandary U. L., Khorana H. G. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1981. V. 78. № 18. P. 6744-6748.
15. Robinson M., Lilley R., Little S., Emtage J. S., Yarranton G., Stephens P., Milligan A., Eaton M., Humphreys G. // Nucl. Acids Res. 1984. V. 12. № 17. P. 6663-6671.
16. Oligonucleotide synthesis: a practical approach./Ed. Gait M. J. Oxford: IRL Press Limited, 1984.
17. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование (пер. с англ.). М.: Мир, 1984.
18. Maxam A. M., Gilbert W. // Meth. Enzymol. 1980. V. 65. P. 499-560.
19. Kagramanova V. K., Mankin A. S., Baratova L. A., Bogdanov A. A. // FEBS Lett. 1982. V. 144. № 2. P. 177-180.

Поступило в редакцию
22.V.1987

CLONING OF THE RIBOSOMAL PROTEIN HS4 GENE OF AN ARCHAE BACTERIUM *HALOBACTERIUM HALOBIUM*

SPIRIDONOVA U. A., KAGRAMANOVA U. K., BARATOVA L. A., GOLOVA Yu. B.*,
CHEKULAEVA L. N.***, MANKIN A. S.

A. N. Belozersky Laboratory of Molecular Biology
and Bioorganic Chemistry, Moscow State University;

* Institute of Molecular Biology, Academy of Sciences of the USSR, Moscow;

** Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the USSR, Puschino

Using a synthetic oligonucleotide probe, a gene of the ribosomal protein HS4 from an archaeobacterium *Halobacterium halobium* has been cloned and partly sequenced. The translation initiation region contains a sequence complementary to the 3' end of the 16S rRNA.