



ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 547.963.32

ПЕРВИЧНАЯ СТРУКТУРА ФРАГМЕНТА ДНК БАКТЕРИОФАГА λ ,
СОДЕРЖАЩЕГО ПРОМОТОР ПОЗДНЕЙ ТРАНСКРИПЦИИ P_R *Петров Н. А., Каргинов В. А., Микрюков Н. Н.,
Сертинский О. И.**Специальное конструкторско-технологическое бюро
биологически активных веществ, Новосибирск**Кравченко В. В., Василенко С. К.**Новосибирский институт органической химии СО
Академии наук СССР*

Транскрипция генов, кодирующих структурные белки бактериофага λ , инициируется РНК-полимеразой *E. coli* с промотора P_R [1, 2]. При анализе продуктов гидролиза ДНК фага λ рестриктазой *Endo R·Bsu I* этот промотор был обнаружен в составе фрагмента размером около 740 пар оснований (*Bsu*-740), который легко выделить из гидролизата с помощью электрофореза в полиакриламидном геле. В настоящей работе определена полная нуклеотидная последовательность этого фрагмента.

ДНК фага λ c1857 гидролизовали эндонуклеазой *Endo R·Bsu I*. Смесь фрагментов разделяли электрофорезом на пластинах (20×10×0,6 см) 4% полиакриламидного геля. Извлеченный из геля фрагмент *Bsu*-740 дефосфорилировали щелочной фосфатазой из *E. coli*, а затем фосфорилировали при помощи $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ (3000 Ки/ммоль) и Т4-полинуклеотидкиназы. $5'$ - ^{32}P меченый фрагмент гидролизовали эндонуклеазой *Endo R·Eco RI*, при этом получали 2 субфрагмента длиной 23 и 714 пар оснований, *Bsu/Eco RI*-23 и *Bsu/Eco RI*-714 соответственно.

Для получения субфрагментов, меченных с противоположных концов, фрагмент *Bsu*-740 сначала гидролизовали эндонуклеазой *Endo R·Eco RI*, а образующиеся липкие концы достраивали с помощью ДНК-полимеразы I в присутствии $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ (200–300 Ки/ммоль) и ТТР. Субфрагменты, меченные ^{32}P по $5'$ - или $3'$ -концам, разделяли электрофорезом на пластинах (20×10×0,05 см) 4%-ного полиакриламидного геля. Первичную структуру субфрагментов определяли методом Максама – Гилберта [3] с некоторыми модификациями: расщепление по G проводили при pH 3,5 [4], а специфическую деградацию по A+G – дифениламиновым методом [5]. Продукты частичного химического гидролиза разделяли электрофорезом на пластинах (40×18×0,05 см) 15%-ного полиакриламидного геля или на пластинах (100×30×0,05 см) 8%-ного полиакриламидного геля. Для определения последовательности нуклеотидов субфрагмента *Bsu/Eco RI*-23 и участков субфрагмента *Bsu/Eco RI*-714 с 3-го по 80-й и с

710-го по 605-й нуклеотид использовали 15%-ный гель. Последовательность оснований с 30-го по 350-й и с 650-го по 310-й установили, используя 8%-ный гель.

Первичная структура фрагмента *Bsu*-740 представлена на рисунке. Она содержит полную последовательность оснований 6S РНК (участок 326—518), транскрипция которой инициируется с $P_{R'}$ -промотора. Первичная структура этой РНК была установлена ранее [6]. Сравнение нуклеотидных последовательностей 6S РНК и фрагмента *Bsu*-740 позволило устранить неопределенность в расположении блоков, составляющих участок 61—89 6S РНК.

Согласно имеющимся в литературе данным, слева от точки инициации мРНК должны находиться два характерных нуклеотидных кластера, составляющих сайт узнавания промотора РНК-полимеразой *E. coli*. Действительно, участок 314—320 фрагмента *Bsu*-740 имеет высокую степень гомологии с последовательностью Прибнова [7], а последовательность 289—300 — с другой характерной областью, расположенной в районе 35-го нуклеотида от стартовой точки транскрипции [8, 9]. Таким образом, нами определена первичная структура промотора $P_{R'}$ фага λ .

Авторы приносят благодарность В. Г. Коробко за любезно предоставленные препараты щелочной фосфатазы и ДНК-полимеразы и С. А. Грачеву за ценные методические советы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Herskowitz I., Signer E. (1971) *J. Mol. Biol.*, **47**, 545—556.
2. Roberts J. (1975) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **72**, 3300—3304.
3. Maxam A. M., Gilbert W. (1977) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **74**, 560—564.
4. Коробко В. Г., Грачев С. А., Колосов М. Н. (1978) *Биоорг. химия*, **4**, 1281—1283.
5. Коробко В. Г., Грачев С. А. (1977) *Биоорг. химия*, **3**, 1420—1422.
6. Sklar J., Yot P., Weissman S. M. (1975) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **72**, 1817—1821.
7. Pribnov D. (1975) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **72**, 784—788.
8. Davis R. W., Schreier P. H., Büchel D. E. (1977) *Nature*, **270**, 757—759.
9. Calos M. P. (1978) *Nature*, **274**, 762—765.

Поступило в редакцию
12.VI.1979

NUCLEOTIDE SEQUENCE OF A BACTERIOPHAGE λ DNA FRAGMENT CONTAINING THE LATE TRANSCRIPTION PROMOTER $P_{R'}$

PETROV N. A., KARGINOV V. A., MIKRYUKOV N. N., SERPINSKY O. I.,
KRAYCHENKO V. V., VASILENKO S. K.

*Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, Siberian Branch
of the Academy of Sciences of the USSR: Special Technology and
Design Bureau for Biologically Active Compounds, Novosibirsk*

A fragment has been isolated from the restrictase *Endo* R-*Bsu* I digest of bacteriophage λ DNA which consists of 740 base pairs and contains the promoter $P_{R'}$ and the complete template for the late 6S RNA. The nucleotide sequence of this fragment is reported.
