

A STUDY OF LYSINE OPERON ORGANIZATION IN *BACILLUS SUBTILIS*

Z. M. Aleksieva, T. N. Shevchenko, S. S. Malyuta

Institute of Molecular Biology and Genetics, Academy of
Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

Summary

The *pBR322* plasmid was used for constructing *pLBI* plasmid carrying genes of *Bacillus subtilis* lysine biosynthesis. *B. subtilis* and *E. coli* strains (lysine-auxotrophs) are transformed. The plasmid is shown to complement both mutations in seven genes of lysine biosynthesis in *E. coli* cells and four mutations in *B. subtilis*. The size of DNA insertion, according to the electrophoresis data, is $4,5 \cdot 10^6$.

1. Umbarger H. E. Amino acid biosynthesis and its regulation.—Annu. Rev. Biochem., 1978, 47, p. 533-606.
2. Bachmann B. J., Low K. B. Linkage map of *Escherichia coli* K-12.—Microbiol. Revs., 1980, 44, N 1, p. 1-56.
3. Окунев О. В., Шевченко Т. Н., Малюта С. С. Клонирование фрагмента ДНК *Bacillus subtilis*, содержащего гены биосинтеза лизина и рибофлавина.—Генетика, 1984, 20, № 7, с. 1061—1066.
4. Экспрессия генов биосинтеза лизина *Bacillus subtilis* в клетках *Escherichia coli* / Т. Н. Шевченко, О. В. Окунев, З. М. Алексиева, С. С. Малюта.—Цитология и генетика, 1984, 18, № 1, с. 58—74.
5. Improvement of *Escherichia coli* strains overproducing lysine using recombinant DNA techniques / B. D. Beverend, A. M. Boitel, A. M. Deschamps et al.—Eur. J. Appl. Microbiol., 1982, 15, N 2, p. 227-231.

Ин-т молекуляр. биологии и генетики
АН УССР, Киев

Получено 19.10.84

УДК 577.112.5:578.841

АМИНОКИСЛОТНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ФРАГМЕНТОВ ПОЛИПЕПТИДНОЙ ЦЕПИ ГРАНУЛИНА ВИРУСА ГРАНУЛЕЗА ОЗИМОЙ СОВКИ, *AGROTIS SEGETUM*

Э. А. Козлов, Т. Л. Левитина, Н. В. Родниц,
В. М. Харченко, С. Б. Серебряный

В предыдущем сообщении [1] обсуждались результаты сравнительного исследования физико-химических свойств полиэдрина вируса ядерного полиэдроза (ВЯП) и гранулина вируса гранулеза (ВГ) *A. segetum*. Первичная структура полиэдрина нескольких ВЯП выяснена нами ранее [2—4]. Полиэдрины представляют собой группу высокомолекулярных по первичной структуре белков, степень гомологии которых лежит в пределах 82—94 % [5]. Настоящее сообщение является первой публикацией по исследованию первичной структуры гранулина бакуловирусов.

Восстановленный и карбоксиметилированный гранулин расщепляли трипсином и химотрипсином. Методами гель-фильтрации, ионообменной хроматографии на AG-50X \times 8, высоковольтным электрофорезом и хроматографией на бумаге, описанными нами ранее [3, 4], было получено 22 триптических и 34 химотриптических пептида. N-концевую последовательность пептидов определяли методом Эдмана, как описано нами ранее [3, 4].

При сопоставлении триптических и химотриптических пептидов удается выписать 26 фрагментов с уникальной аминокислотной последовательностью, насчитывающих в сумме 212 остатков аминокислот, что составляет 91 % полипептидной цепи белка с молекулярной массой 27500 [1].

1. Ser-Gly-Lys-Glu-Phe-Leu-Arg-Glu-Thr-Trp-Thr-Arg-Phe-Ile-Glx-Asx-Glx-Phe-Val-
(Asx₂, Ser, Thr, Glx, Pro, Met, Leu₂, Tyr)
2. Ser-Glx-Ile-(Glx₂, Ala, Ile)-Met-(Asx, Glx, Ala, Val₄, Met, Ile₃, Phe)

3. Tyr-Ala-Leu-Gly-Ala-His-Val-Asx-(His, Pro, Ala, Tyr)-Asp-Val-Ile-Arg
4. Ile-(Asx₂, Thr, Ser, Glx₄, Pro, Met, Leu, Phe)-Arg
5. Gly-Tyr-Trp-Tyr-Pro-Ala-Leu-(Thr₂, Glu)-Arg
6. Ser-Leu-Asx-Val-Leu-Ile-(Lys, His, Asx)-Tyr
7. Lys-Gly-Tyr-Lys-Asn-(Ser, Gln, Glu, Ala, Ile)
8. Lys-Asp-Arg-Arg-Ile-Ser-Glu-Ala-Tyr
9. Phe-Asp-Glu-His-Leu-Pro-Tyr-Trp
10. Ile-Thr-Leu-Phe-Lys-Glu-Ile-Arg
11. Ser-Val-Tyr-Asx-(Asx, Glx, Phe)-Phe
12. Gly-Pro-Gly-(His, Pro, Gly)-Lys
13. Lys-Leu-Ile-Thr-Asp-Glu-Arg
14. Gly-Pro-Gly-(Lys, Asn, Ser)
15. Asx-Leu-Ala-Asx-Glx-Tyr
16. Phe-Thr-Gly-Pro-Ala-Tyr
17. Lys-Ile-Lys-Glu-Phe
18. Ile-Asn-Leu-Ser-Lys
19. Tyr-Ala-Pro-Leu-Lys
20. Thr-Cys-Leu-Gln
21. Ser-Leu-Tyr-Arg
22. Asn-Val-Arg
23. Leu-Glu-Phe
24. Arg-Leu-Tyr
25. (Arg, Pro, Leu)
26. Asn-Lys

Для полиэдрина ряда бакуловирусов сопоставление структуры только триптических пептидов с аминокислотной последовательностью полиэдрина ВЯП *Bombyx mori* [2] позволяет реконструировать всю полипептидную цепь [5]. В случае же гранулина ВГ *A. segetum* не удастся таким путем реконструировать первичную структуру белка. Очевидно, что степень гомологии гранулина и полиэдринов значительно ниже гомологии, наблюдаемой среди полиэдринов.

THE AMINO ACID SEQUENCE OF POLYPEPTIDE CHAIN FRAGMENTS OF THE *AGROTIS SEGETUM* GRANULOSIS VIRUS GRANULIN

E. A. Kozlov, T. L. Levitina, N. V. Rodnin, V. M. Kharchenko, S. B. Serebryany

Institute of Molecular Biology and Genetics, Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

Summary

The amino acid sequence of polypeptide chain fragments of the *A. segetum* granulosis virus granulin is presented. 26 fragments comprise 212 amino acid residues and account for 91 % of the granulin polypeptide chain.

1. *Некоторые физико-химические свойства белка тел включений вируса ядерного полиэдроза и вируса гранулеза озимой совки Agrotis segetum* / Э. А. Козлов, Т. Л. Левитина, Н. М. Гусак, С. Б. Серебряный.— Биополимеры и клетка, 1985, 1, № 3, с. 121—124.
2. *Реконструкция полипептидной цепи белка тел включений вируса ядерного полиэдроза тутового шелкопряда. Полная аминокислотная последовательность* / Э. А. Козлов, Т. Л. Левитина, М. С. Кацман и др.— Биоорганическая химия, 1978, 4, № 8, с. 1048—1053.
3. *Триптические пептиды белка тел включений вируса ядерного полиэдроза непарного шелкопряда* / Т. Л. Левитина, Э. А. Козлов, М. Н. Овандер, С. Б. Серебряный.— Биоорганическая химия, 1981, 7, № 7, с. 985—995.
4. *Триптические пептиды белка тел включений вируса ядерного полиэдроза большой вошинной моли* / Н. М. Гусак, Э. А. Козлов, М. Н. Овандер, С. Б. Серебряный.— Биоорганическая химия, 1981, 7, № 7, с. 996—1007.
5. *Сравнение аминокислотной последовательности белков тел включений вирусов ядерного полиэдроза тутового, непарного шелкопряда и большой вошинной моли* / Э. А. Козлов, Т. Л. Левитина, Н. М. Гусак и др.— Биоорганическая химия, 1981, 7, № 7, с. 1008—1015.

Институт молекулярной биологии и генетики
АН УССР, Киев

Получено 26.12.84