

КОДОВОЕ СООТВЕТСТВИЕ ШЕСТИ ЛЕЙЦИНОВЫХ тРНК ИЗ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КОРОВ

Г. В. Овчаренко, А. П. Солдаткин, М. В. Роднина, А. В. Ельская

Введение. Одной из проблем, привлекающих в настоящее время широкий круг исследователей, является выяснение механизмов, обеспечивающих высокую точность синтеза белка в клетке.

Наши предыдущие исследования были посвящены изучению роли соотношения кодонспецифических и неспецифических тРНК для точности прочтения определенного кодона. На модельной системе бесклеточного биосинтеза белка из зародышей пшеницы, синтез пептидов в которой полностью зависел от внесения поли(U) и экзогенных тРНК, мы впервые показали, что суммарные тРНК из эукариотических объектов в разной степени ошибаются при считывании поли(U), причем из всех исследованных препаратов наибольшей неоднозначностью трансляции отличаются тРНК из дифференцированной молочной железы [1]. Изучение причин обнаруженного явления позволило сделать заключение, что низкая точность декодирования поли(U) суммарными тРНК из лактирующей молочной железы коррелирует с высоким значением соотношения $tRNA^{Leu}/tRNA^{Phe}$ в ее составе и наличием изоакцепторных тРНК^{Leu}, обладающих повышенной способностью ошибочно считывать кодон UUU [2].

Целью настоящей работы явилось выяснение взаимосвязи между кодовыми свойствами отдельных изоакцепторных тРНК^{Leu} из молочной железы коров и их способностью ошибочно считывать поли(U).

Материалы и методы. Суммарный препарат тРНК и обогащенные препараты изоакцепторных тРНК^{Leu} получали из дифференцированной молочной железы коров по [3], суммарный препарат аминоксил-тРНК-синтетаз и факторов трансляции по методу Хогланда и соавт. [4], субчастицы рибосом из печени кроликов, как описано ранее [5]. Препаративное аминокислотирование тРНК проводили по методу Холмса и соавт. [6]. Для определения биологической активности рибосом проводили связывание ¹⁴C-фенилаланил-тРНК^{Phe} 80S рибосомами [7]. Кодовые свойства тРНК₁₋₆^{Leu} изучали при оптимальных значениях концентраций компонентов реакции, как описано ранее [5]. Синтез тринуклеотидов осуществлен в Институте биорганической химии СО АН СССР и препараты любезно предоставлены нам А. Г. Веняминовой.

Результаты и обсуждение. Ранее нами было показано, что три минорных компонента тРНК^{Leu}_{4,5,6} из дифференцированной молочной железы на порядок превышают способность остальных тРНК^{Leu} ошибочно декодировать полиуридиловую кислоту [2]. Если принять за 1 способность тРНК₂^{Leu} ошибочно включать лейцин, то для дифференцированной молочной железы соотношение тРНК^{Leu}_{1:2:3:4:5:6} составляет 1,9:1,0:3,5: : 82,0 : 58,0 : 34,0.

Сопоставление результатов определения кодового соответствия тРНК₁₋₆^{Leu} шести кодонам лейцина (таблица) с их способностью транслировать поли(U) позволило обнаружить интересные закономерности.

Для лейцина существует шесть кодонов: UUA и UUG семейства UUX и четыре кодона семейства CUX. тРНК^{Leu}, специфичные к UUA и UUG, должны наиболее эффективно включать лейцин в продукт трансляции поли(U), поскольку состав этих кодонов отличается от фенилаланинового кодона только третьим («Wobble») положением. Поэтому можно было предположить, что уровень ошибочного считывания поли(U) суммарными препаратами тРНК различного происхождения должен определяться наличием изоакцепторных тРНК^{Leu}, специфичных к кодонам UUA/G. Нами действительно установлено, что тРНК_{5,6}^{Leu} из дифференцированной молочной железы коров, специфичные к UUA/G кодонам, достаточно эффективно включают лейцин в продукт трансляции поли(U). Однако наибольшая способность ошибочно считывать данную матрицу характерна для тРНК₄^{Leu} с антикодоном IAG [8], предпочтительно узнающей кодон CUU. Высокую эффективность тРНК₄^{Leu} в трансляции поли(U), вероятно, можно объяснить следующим образом. При взаимодействии антикодона IAG с кодоном UUU образуется стандартная А-У пара во втором положении кодона и I-У пара в третьем («Wobble») положении кодона, разрешенная гипотезой Крика. Взаимодействие по этим двум основаниям, вероятно, может индуцировать образование G-У пары

Кодовое соответствие тРНК₁₋₆^{Leu} из дифференцированной молочной железы коров кодомам лейцина

тРНК ^{Leu}	Кодоны, стимуляция связывания лейцил-тРНК ^{Leu}						Предполагаемый антикодон*
	UUA	UUG	CUU	CUC	CUA	CUG	
1	—	—	++	+++	++	+	GAG
2	—	—	++	+	+	+++	CAG
3	—	—	+	+	+++	+	UAG
4	—	—	+++	+	++	+-	IAG
5	+++	+	—	—	—	—	UAA
6	+	+++	—	—	—	—	CAA

*) В первом положении антикодона возможны модифицированные основания.
Обозначения: (+++) — максимальное кодонзависимое связывание каждой изоакцепторной тРНК, принято за 100%; (++) — связывание, составляющее 70–90% максимального; (+) — 40–60%; (+-) — 10–30%; (—) — отсутствие стимуляции связывания данным кодоном.

в первом положении кодона. Принципиальная возможность образования такой пары доказывается в работе [9] и наличием G-U пар в спиральных участках многих тРНК. Таким образом, при считывании поли(U) тРНК₄^{Leu} взаимодействует с кодоном по всем трем основаниям, что и определяет высокую эффективность трансляции этой матрицы. Кроме того, известна важность структуры отдаленных от антикодона участков молекулы тРНК для узнавания кодонов на рибосоме [10, 11]. Можно предположить, что высокая эффективность тРНК₄^{Leu} при считывании поли(U) связана с особенностями структуры данной тРНК.

Предполагаемый антикодон тРНК₁^{Leu} — GAG, тРНК₂^{Leu} — CAG, тРНК₃^{Leu} — UAG. Эти изоакцепторные тРНК^{Leu} с низкой эффективностью считывают поли(U), что хорошо согласуется с данными Гросжана [12].

THE CODING PROPERTIES OF SIX LEUCINE tRNA FROM THE COW MAMMARY GLAND

G. V. Ovcharenko, A. P. Soldatkin, M. V. Rodnina, A. B. Eiskaya

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

Summary

The codon response of six leucine isoacceptor tRNA^{Leu}₁₋₆ from the cow mammary gland is studied.

Their coding properties and the ability to misread poly(U) in the cell-free tRNA-dependent wheat germ system are compared.

1. Роль тРНК в регуляции скорости и точности трансляции / А. В. Ельская, Н. И. Желтовская, А. П. Солдаткин, Г. В. Турковская. — В кн.: Макромолекулы в функционирующей клетке: Тез. докл. II Советско-Итальянского симпозиума (Пушино, декабрь 1980 г.) — Пушино, 1980, с. 32–33.
2. Неоднозначность трансляции полиуридиловой кислоты транспортными РНК из различных эукариотических объектов / А. П. Солдаткин, Н. И. Желтовская, Г. В. Овчаренко, А. В. Ельская. — Укр. биохим. журн., 1983, 55, № 6, с. 603–607.
3. Методы выделения тРНК и индивидуальных тРНК^{Leu} и тРНК^{Phe} из животных тканей / М. И. Коваленко, Н. И. Желтовская, А. В. Ельская и др. — В кн.: Методы современной биологии. Киев: Наук. думка, 1979, с. 98–111.
4. A soluble ribonucleic acid intermediate in protein synthesis / M. B. Hoagland, M. L. Stephenson, J. F. Scott et al. — J. Biol. Chem., 1958, 231, N 1, p. 241–257.
5. Изучение кодового соответствия тРНК₁₋₆^{Leu} молочной железы коров / Г. В. Овчаренко, А. П. Потапов, Б. С. Негруцкий и др. — Укр. биохим. журн., 1983, 55, № 6, с. 608–613.
6. Separation of transfer ribonucleic acid by sepharose chromatography using «reverse» salt gradients / W. H. Holms, R. E. Hurd, B. R. Reid et al. — Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1975, 72, N 3, p. 1068–1071.

7. Nirenberg M., Leder P. RNA codewords and protein synthesis. The effect of trinucleotides upon the binding of sRNA to ribosomes.— *Science*, 1964, 145, N 3639, p. 1399—1407.
8. Первичная структура тРНК^{Leu} лактирующей молочной железы коров / И. Г. Васильева, М. А. Тукало, И. А. Крикливый, Г. Х. Мацука.— *Молекуляр. биология*, 1984, 48, вып. 5, с. 1321—1325.
9. Demonstration of G-U Wobble base pairs by raman and IR spectroscopy / H. Kluml, Ih. Ackermann, V. Gramlich et al.— In: *Ann. Meet. Deutsche Ges. Biophys. Abstr. Paster Present. Konstanz*, 1978, 11, p. 11.
10. Horsh D. Tryptophan tRNA as UGA suppressor.— *J. Mol. Biol.*, 1971, 58, N 4, p. 439—458.
11. Diamond A., Dudock B., Hatfield D. Structure and properties of bovine liver UGA suppressor tRNA with a tryptophan anticodon.— *Cell*, 1981, 25, N 2, p. 497—506.
12. Grosjean H., Chantrenne H. On codon-anticodon interaction.— In: *Mol. Biol., Biochem. and Biophys. Chemical Recognition in Biology* / Eds. F. Chapeville, A. Haenni. Berlin : Springer Verlag, 1980, v. 32, p. 347—367.

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

Получено 10.07.85

Окончание. Начало см. на с. 39—44.

22. Manning G. S. Theory of H1-mediated control of higher orders of structure in chromatin.— *Biopolymers*, 1979, 18, N 12, p. 2929—2942.
23. Manning G. S. Thermodynamic stability theory for DNA doughnut shapes induced by charge neutralization.— *Ibid.*, 1980, 19, N 1, p. 37—39.
24. Bloomfield V. A., Wilson R. W., Rau D. C. Polyelectrolyte effects in DNA condensation by polyamines.— *Biophys. Chem.*, 1980, 11, N 3, p. 339—343.
25. Glotov B. O., Nikolaeo L. G., Severin E. S. Histone H1 — DNA interaction. On the mechanism of DNA strands cross-linking by H1.— *Nucl. Acids Res.*, 1978, 5, N 10, p. 2587—2605.
26. The structure of histone H1 and its location in chromatin / J. Allan, P. G. Hartman, C. Crane-Robinson, F. X. Aviles.— *Nature*, 1980, 288, N 5792, p. 675—679.
27. Singer D. S., Singer M. F. Studies on the interaction of H1 histone with superhelical DNA: characterization of the recognition and binding regions of H1 histone.— *Nucl. Acids Res.*, 1976, 3, N 10, p. 2531—2547.
28. Исследование комплексов гистона H1 с суперспиральной ДНК / И. М. Ундрицов, В. И. Нактинис, Ю. Ю. Венгеров и др.— *Молекуляр. биология*, 1982, 16, № 4, с. 720—729.

Киевский госуниверситет

Получено 10.10.84