

В. М. АНДРЕЕВ, Э. М. ГОНИКБЕРГ

**НОВЫЕ ПОСТСИНТЕТИЧЕСКИЕ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ
ПРИ СБОРКЕ ГОЛОВКИ БАКТЕРИОФАГА Т4**

(Представлено академиком А. А. Баевым 10 IV 1974)

При внутриклеточном развитии многих вирусов имеет место характерное явление — постсинтетическое расщепление некоторых полипептидных цепей, являющихся предшественниками белков, входящих в состав вирусной частицы. Такого типа модификации были найдены у представителей многих групп вирусов животных (см., например, обзор ⁽¹⁾), а также у неродственных бактериофагов Т4 ⁽²⁻⁵⁾, λ ⁽⁶⁾, Т5 ⁽⁷⁾, Р2 ⁽⁸⁾. В одних случаях это расщепление как бы замещает функции отсутствующих на РНК-матрице мест инициации и терминации нескольких полипептидных цепей, в других — сопряжено с самим процессом сборки вирусной частицы. Можно думать, что широкое распространение таких модификаций в природе отражает какие-то еще недостаточно ясные общие принципы сборки вирусов, например необходимость стабилизации капсида после его сборки из субъединиц или необходимость дестабилизации нуклеиновой кислоты после ее упаковки внутрь капсида ⁽⁸⁾.

Чтобы обнаружить постсинтетические модификации полипептидных цепей, обычно делают кинетический опыт типа «импульс-чейз», и в отобранных пробах фракционируют полипептидные цепи по молекулярному весу при помощи электрофореза в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия (ДСН): при импульсной метке радиоактивными аминокислотами получается электрофоретическая картина (э.к.) меченых новообразованных пептидов, при «чейзе» (изотопном разбавлении большим избытком нерадиоактивных аминокислот) интенсивность полосы меченого белка-предшественника постепенно падает и в области меньших молекулярных весов появляется новая меченая полоса, соответствующая продукту расщепления.

Фаг Т4 является одним из сравнительно хорошо изученных вирусов, который уже много дал для понимания механизмов сборки субклеточных структур. Головка фага Т4 состоит не менее чем из 11 видов белков ^(2, 3) и одной молекулы ДНК, которая плотно упакована внутри головки. Число фаговых генов, необходимых для нормального морфогенеза головки, еще больше — их не менее 18, не считая генов, необходимых для репликации фаговой ДНК. Ранее было найдено ⁽²⁻³⁾, что при сборке головки Т4 идут модификации следующих белков: Р22 → ?, Р23 → Р23*, Р24 → Р24*, IP3 → → IP3* (идентифицированные белки обозначены буквой Р, за которой следует номер фагового гена, кодирующего соответствующий белок; звездочкой обозначены продукты модификации). Белок Р23* является главным, Р24* — минорным белком капсида, IP3* — один из внутренних белков головки. В настоящей работе сообщается об идентификации на э.к. еще двух белков фага Т4, один из которых исчезает, а другой появляется при морфогенезе головки фага.

Культуру бактерий *Escherichia coli* В, растущую экспоненциально в среде М9 с аэрацией, заражали диким фагом Т4 или его амбер-мутантами

На рис. 1, 2, 3, 14, 15 приведены э.к., полученные в опыте «импульс-чейз» на диком фage T4D. Видны модификации четырех белков P23, P24, P22, P18, описанные Леммли (2). Кроме того, можно видеть, что в результате «чейза» появляется полоса V_1 и уменьшается интенсивность полосы A_1 (рис. 2). Рис. 1, 1 показывает, что у мутанта amXF9 (22⁻, 23⁻, 24⁻) (в скобках указаны номера генов, в которых имеются амбер-мутации), у которого не происходит сборки капсидов, интенсивность полосы A_1 не уменьшается при «чейзе», а полоса V_1 не появляется. Таким образом, ослабление полосы A_1 не является просто следствием лабильности белка A_1 .

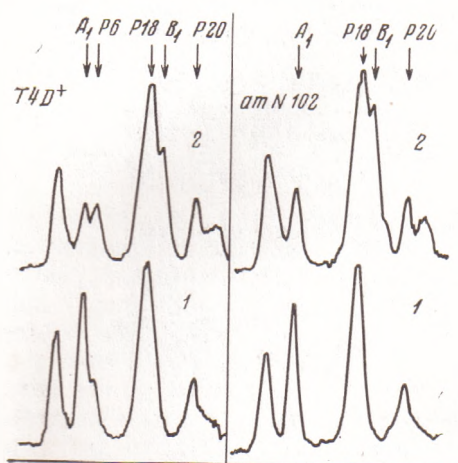


Рис. 2. Денситограмма участка э.к., изображенных на рис. 1. T4D⁺: 1 — «импульс» (рис. 1, 14), 2 — «чейз» (рис. 1, 15); amN102: 1 — «импульс» (рис. 1, 10), 2 — «чейз» (рис. 1, 11)

идентификацию P20, а рис. 1, 6 — идентификацию P18. Недавно Коппо и др. (11) сообщили, что при сборке капсида фage T4 появляется продукт модификации — белок V_1 , расположенный в том же месте э.к., что и белок V_1 , описанный в настоящей работе. По-видимому, эти белки тождественны.

В первых опытах по электрофорезу по стандартному способу Леммли (2), когда использовали реактивы фирмы «Реанал» и ДСН фирмы «Ферак» без дальнейшей очистки, полосы A_1 и A_2 получались отдельными (рис. 1а). При последующей работе использовали перекристаллизованные реактивы: это улучшало воспроизводимость результатов и разрешение в нижней части э.к., однако при этих условиях полоса A_1 регулярно сливалась с полосой A_2 (рис. 1б, ср. также э.к. в работах (12, 13)). В дальнейшем было найдено, что повышение ионной силы в нижнем геле (путем увеличения вдвое концентрации трис-НСl) приводит к разделению полос A_1 и A_2 (рис. 1в). При получении э.к., приведенных на рис. 1в, 5% меркаптоэтанол в «буфере для образца» был заменен на 2,5% дитиоэритрит.

Рис. 1, 10–13 показывает, что полоса A_2 — это продукт гена 6 (P6 — белок хвостовой пластинки), поскольку A_2 исчезла у T4DamN 102 (6⁻) и T4Brlam 580 (6⁻) (последний мутант получен от В. К. Гордеева (14)). Продукт гена 6 был ранее идентифицирован в том же месте э.к. Кингом и Леммли (13).

Полоса A_1 ослаблялась при «чейзе» примерно вдвое, но не исчезала до конца.

Возможно, что исчезающий при чейзе белок A_1 является предшественником белка V_1 . Среди белков с молекулярным весом большим, чем у V_1 , полоса A_1 является единственной, которая значительно ослабляется при «чейзе». Сравнение кинетики ослабления полосы A_1 и усиления полосы V_1 и баланс метки также не противоречат предположению о превращении

$A_1 \rightarrow B_1$. Однако в принципе возможно также, что B_1 не возникает из A_1 , а является продуктом постсинтетического сращивания полипептидных цепей.

Авторы выражают благодарность В. К. Гордееву, А. Н. Майсурияну, Т. Г. Плотниковой, В. З. Погосову за предоставление амбер-мутантов бактериофага Т4.

Институт химической физики
Академии наук СССР
Москва

Поступило
30 III 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ F. A. Eiserling, R. C. Dickson, Ann. Rev. Biochem., v. 41, 467 (1972). ² U. K. Laemmli, Nature, v. 227, 680 (1970). ³ R. C. Dickson et al., J. Mol. Biol., v. 53, 461 (1970). ⁴ J. Hosoda, R. Cone, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A., v. 66, 1275 (1970). ⁵ E. Kellenberger, C. Kellenberger van der Kamp, FEBS Letters, v. 8, 140 (1970). ⁶ H. Murialdo, L. Siminovitch, Virology, v. 48, 824 (1972). ⁷ M. Zweig, D. J. Cummings, J. Mol. Biol., v. 80, 505 (1973). ⁸ J. Lenguel et al., Virology, v. 53, 1 (1973). ⁹ В. П. Щербаков и др., Молек. биол., т. 4, 841 (1970). ¹⁰ В. Б. Мамаев и др., Тр. семинара по электрофорезу в полиакриламидном геле, М., 1973, стр. 55. ¹¹ A. Coppo et al., J. Mol. Biol., v. 76, 61 (1973). ¹² J. King, U. K. Laemmli, J. Mol. Biol., v. 62, 465 (1971). ¹³ Idem, v. 75, 315 (1973). ¹⁴ С. И. Алиханян и др., Генетика, т. 8, 133 (1972).