

Н. П. ЮРИНА, М. С. ОДИНЦОВА, академик А. И. ОПАРИН

ПЛОТНОСТНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РИБОСОМ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ И РАСТЕНИЙ

Для разделения и характеристики рибосомных частиц широко используют седиментационный и плотностный методы анализа. В то время как седиментационный анализ позволяет делить частицы в соответствии со скоростью их движения в гравитационном поле ультрацентрифуги, плотностный анализ центрифугированием в градиенте плотности CsCl до равновесия позволяет делить частицы в соответствии с величинами их плавучей плотности, т. е. химическим составом *. До недавнего времени метод плотностного анализа центрифугированием в градиенте солей тяжелых металлов не находил широкого применения, так как клеточные РНП-частицы неустойчивы в растворах солей с высокой ионной силой. Эту трудность удалось преодолеть предварительной фиксацией РНП-частиц (формальдегидом, глутаровым альдегидом и др.).

Имеющиеся в литературе данные о плавучей плотности рибосом немногочисленны и касаются, в основном, рибосом бактериального и животного происхождения. Между тем, сведения о химическом составе рибосом разного происхождения представляют большой интерес с точки зрения эволюции рибосомных частиц, развития их структуры и функции.

В настоящей работе приводится плотностная характеристика рибосом 2 видов фотосинтезирующих бактерий, 6 видов синезеленых водорослей, 1 вида зеленых водорослей и 7 видов высших растений. Приводится также плотностная характеристика рибосом хлоропластов низших и высших растений. Условия культивирования фотосинтезирующих бактерий и водорослей, методы получения и очистки хлоропластов, а также рибосом описаны ранее (¹, ²).

Выделенные препараты рибосом имели типичные спектры поглощения в у.-ф. свете, отношения E_{266}/E_{280} 1,8—1,9 и E_{260}/E_{235} 1,4—1,7 и по данным аналитического ультрацентрифугирования содержали преимущественно мономеры рибосом (иногда обнаруживались пики димеров). Белковые примеси в препаратах отсутствовали. Плавучую плотность рибосом определяли по методу Бранка и Ван Лейка (³). Плотности растворов CsCl рассчитывали по уравнению Иффта и др. (⁴) с внесением поправки на показатель преломления формальдегида. Процентное содержание белка в рибосомах определяли по эмпирической формуле: $C(\%) = (1,85 - \rho) / 0,06$ (⁵).

Большинство исследованных препаратов рибосом распределялось в градиенте CsCl в виде одного гомогенного пика. В препаратах рибосом зародышей пшеницы наблюдалось гетерогенное распределение и обнаруживался компонент с плавучей плотностью меньшей, чем у основного компонента рибосом (ρ 1,51 и 1,55 г/см³ соответственно). Поскольку мы не проводили сравнительного исследования препаратов рибосом зародышей пшеницы, выделенных и очищенных различными методами, трудно сказать, с чем связано наличие компонента с более высоким содержанием белка. Возможно, что эти менее плотные рибосомы содержат белки перирибосомального происхождения (⁶).

* Поскольку плавучая плотность РНК в CsCl составляет около 1,9 г/см³, а белка 1,30—1,35 г/см³, то, очевидно, что у РНП-частиц она должна меняться в зависимости от соотношения РНК : белок в частицах.

Т а б л и ц а 1

Плавучая плотность в CsCl бактериальных и растительных рибосом, фиксированных формальдегидом

Организмы	ρ , г/см ³	Белок, %	РНК/белок	Источ- ник
Б а к т е р и и				
<i>Escherichia coli</i>	1,62*	38,3	1,61	(7)
»	1,64	35,0	1,86	(8)
»	1,64	35,0	1,86	(9)
»	1,639±0,005	35,1	1,85	
<i>Rhodopseudomonas gelatinosa</i>	1,623±0,007	37,9	1,64	
<i>Chromatium vinosum</i>	1,616±0,004	39,0	1,56	
Синезеленые водоросли				
<i>Anacystis nidulans</i>	1,615±0,007	39,2	1,55	
<i>Synechocystis aquatilis</i> Sanv.	1,612±0,002	39,7	1,52	
<i>Lyngbya</i> sp.	1,622±0,006	38,0	1,63	
<i>Anabaena variabilis</i>	1,634±0,004	36,0	1,78	
<i>Plectonema boryanum</i>	1,618±0,015	38,7	1,58	
<i>Spirulina</i> sp.	1,640	35,0	1,86	
Г р и б ы				
<i>Dictyostelium discoideum</i>	1,58	45,0	1,22	(10)
<i>Dictyostelium purpureum</i>	1,58	45,0	1,22	(10)
З е л е н ы е в о д о р о с л и				
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>				
цитоплазма	1,557	49,0	1,04	
хлоропласты	1,570	46,7	1,14	
В ы с ш и е р а с т е н и я				
тип Папоротникообразные				
<i>Equisetum pratense</i>	1,567±0,002	47,1	1,12	
тип Покрытосемянные, класс Однодольные				
<i>Triticum vulgare</i>	1,553±0,003	49,5	1,02	
»	1,565	47,5	1,10	(11)
<i>Zea mays</i>	1,553±0,003	49,5	1,02	
класс Двудольные				
<i>Antirrhinum majus</i>	1,568±0,002	47,0	1,13	
<i>Nicotiana tabacum</i>	1,553±0,002	49,5	1,02	
<i>Phaseolus vulgaris</i>	1,563	48,0	1,08	
<i>Pisum sativum</i>				
цитоплазма	1,549	50,2	0,99	
хлоропласты	1,576	45,7	1,19	
цитоплазма	1,527±0,002	53,4	0,87	(2)
хлоропласты	1,555±0,003	49,2	1,03	(12)
семена	1,55	50,0	1,00	(13)

П р и м е ч а н и е. Процентное содержание белка и отношение РНК/белок здесь в табл. 2 рассчитаны нами.

* Нефиксированные рибосомы.

В табл. 1 приведена плавучая плотность в CsCl исследованных нами рибосом по данным 2—5 независимых опытов. В таблицу включены также литературные данные по плавучей плотности бактериальных и растительных рибосом. Как видно, плавучая плотность бактериальных рибосом и рибосом синезеленых водорослей, являющихся частицами 70 S-типа, составляет 1,61—1,64 г/см³ (отношение РНК/белок 1,50—1,86). Для ци-

Таблица 2

Плавучая плотность в CsCl животных рибосом, фиксированных формальдегидом

Организмы	ρ , г/см ³	Белок, %	РНК/белок	Источник
Прогейшие				
<i>Tetrahymena pyriformis</i>				
цитоплазма	1,56	48,4	1,07	(14)
митохондрии	1,46	65,0	0,54	(14)
Иглокожие				
<i>Lytechinus pictus</i>	1,575	45,9	1,18	(15)
<i>Sphaerechinus granularis</i>	1,56	48,4	1,07	(10)
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>				
зародыши	1,574	46,0	1,17	(15)
неоплодотворенные яйца	1,577	45,5	1,20	(15)
<i>Paracentrotus lividus</i>	1,55	50,0	1,00	(10)
Земноводные				
<i>Xenopus laevis</i>	1,583±0,009	44,5	1,25	(18)
Рыбы				
<i>Misgurnus fossilis</i>	1,553±0,13	49,6	1,01	(15)
Птицы				
Куриный эмбрион, культура клеток	1,55	50,0	1,00	(17)
Млекопитающие				
Асцитная карцинома Эрлиха	1,55	50,0	1,00	(15)
Асцитная карцинома Кребса	1,55	50,0	1,00	(16)
Печень крысы	1,60	41,7	1,40	(15)
»	1,56	48,4	1,07	(15)
L-клетки	1,546±0,003	50,6	0,98	(15)
Клетки HeLa	1,56	48,4	1,07	(15)
» *	1,55	50,0	1,00	(15)

* Рибосомы фиксировали глутаровым альдегидом.

топлазматических рибосом зеленых водорослей и высших растений (80 S-частицы) характерна плавучая плотность 1,55—1,57 г/см³ (РНК/белок 1,00—1,14). Следует отметить, что рибосомы, выделенные нами из цитоплазмы проростков гороха, имеют ту же плавучую плотность, что и рибосомы, выделенные из сухих семян (13). Для сравнения в табл. 2 приведена плавучая плотность 80 S-рибосом животных клеток, которая близка к плотности 80 S растительных рибосом. Однако, в то время как для 80 S-рибосом растений плавучая плотность, по-видимому, не зависит от метода выделения и очистки препаратов (13), для рибосом животных клеток, выделенных из одного и того же объема, возможны значительные вариации в плавучей плотности. Как было показано недавно (6), для рибосом животных клеток, способных к трансляции in vitro, характерной является плавучая плотность, равная 1,55 г/см³ (РНК/белок 1,0).

Согласно имеющимся данным, в процессе эволюции происходит увеличение размера рибосомных частиц, возрастают коэффициенты седиментации компонентов рибосомальной РНК (от 23 S до 29 S и от 16 S до 18 S, для большой и малой субъединиц соответственно), увеличивается число молекул белка в одной рибосомной частице (от 55 в 70S-рибосомах до 80—100 в 80S-частицах).

Полученные нами данные о химическом составе рибосом свидетельствуют о том, что относительное содержание белка в рибосомах не остается постоянным и увеличивается в процессе эволюции. В то время как у бактерий и синезеленых водорослей отношение РНК/белок составляет в среднем около 1,7, у грибов оно уменьшается до 1,2, а у зеленых водорослей, высших растений и животных это отношение близко к 1.

Обращает на себя внимание состав рибосом хлоропластов изученных видов растений, определенный по плавучей плотности и подтвержденный данными химического анализа ($\rho \sim 1,57$ г/см³, РНК/белок 1,14—1,19). В то время как по ряду физико-химических свойств (коэффициентам седиментации рибосомных частиц, их субъединиц и соответствующих компонентов рРНК, способности к диссоциации и др.) рибосомы хлоропластов близки к рибосомам бактерий и синезеленых водорослей, по химическому составу они приближаются к цитоплазматическим рибосомам тех же видов растений. Однако в связи с тем, что сведения о составе рибосом пластид практически отсутствуют в литературе, для окончательных выводов полученные нами данные необходимо подтвердить на рибосомах, выделенных различными методами, из хлоропластов разного происхождения.

Приносим глубокую благодарность Л. К. Осницкой за предоставленные в наше распоряжение культуры фотосинтезирующих бактерий; М. В. Гусеву и Б. В. Грому за культуры синезеленых водорослей; К. С. Спекторову за культуру *Chlorella pyrenoidosa* Pringsh. 82T.

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР
Москва

Поступило
17 III 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Н. П. Юрина, В. И. Чудина и др., Мол. биол., 6, 153 (1972). ² М. С. Одинцова, Н. П. Юрина, Биохимия, 34, 667 (1969). ³ C. F. Brunk, Vagn Leick, Biochim. et biophys. acta, 179, 136 (1969). ⁴ J. B. Ifft, D. M. Voet, J. Vinograd, J. Phys. Chem., 65, 1138 (1961). ⁵ Л. П. Овчинников, Т. С. Быстрова, А. С. Спириц, ДАН, 185, 210 (1969). ⁶ Д. А. Файс, Р. С. Шакулов, Е. В. Клячко, Биохимия, 36, 1033 (1971). ⁷ M. Meselson, M. Nomura et al., J. Mol. Biol., 9, 696 (1964). ⁸ A. S. Spirin, N. V. Belitzina, M. I. Lerman, J. Mol. Biol., 14, 611 (1965). ⁹ R. M. Young, D. Nakada, Nature, 227, 604 (1970). ¹⁰ C. Ceccarini, R. Maggio, Biochim. et biophys. acta, 116, 134 (1968). ¹¹ D. Chen, G. Schultz, E. Katchalski, Nature New Biol., 231, 69 (1971). ¹² Э. Н. Светайло, И. И. Филиппович, ДАН, 174, 714 (1967). ¹³ Н. А. Гумилевская, Е. Б. Куваева и др., Биохимия, 36, 277 (1971). ¹⁴ J. C. H. Chi, J. Suyama, J. Mol. Biol., 53, 531 (1970). ¹⁵ Л. П. Овчинников, А. С. Спириц, Усп. совр. биол., 71, 3 (1971). ¹⁶ P. J. Ford, Biochem. J., 125, 1091 (1971). ¹⁷ В. М. Зайдес, А. Г. Букринская, В. М. Жданов, Мол. биол., 5, 780 (1971). ¹⁸ M. Rosbash, S. Penman, J. Mol. Biol., 59, 243 (1971).