

Б. М. МЕДНИКОВ, Е. А. ШУБИНА, Т. П. ТУРОВА
**О СВЯЗИ МЕЖДУ ЭЛЕКТРОПРОВОДНОСТЬЮ РИБОСОМ
И ТЕМПЕРАТУРНЫМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ
РОСТА ОРГАНИЗМОВ**

(Представлено академиком А. Н. Белозерским 18 XI 1971)

Известно (¹⁻³), что в зоне оптимальных температур скорость роста микроорганизмов подчиняется закону Вант-Гоффа — Аррениуса:

$$\frac{V_2}{V_1} = \exp - \frac{\Delta E}{R} \left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1} \right),$$

где V_2 и V_1 соответственно скорости роста (обратные величины продолжительности роста) при температурах T_2 и T_1 , R — газовая постоянная и ΔE — температурная характеристика, имеющая размерность энергии активации (ккал/мол) и часто так и называемая.

Отсюда следует, что в оптимальной температурной зоне скорость развития и роста клеток лимитируется каким-то активационным процессом, природа которого неясна. Это может быть катализируемая ферментом реакция, ионная диссоциация, конформационный переход и т. д.

Нами (³) было показано, что энергия активации роста коррелирует с нуклеотидным составом рибосомной РНК: чем выше процент ГЦ, тем ниже эта величина. Известно также, что ΔE роста совпадает с ΔE включения в белок меченых аминокислот (по нашим данным для *Escherichia coli* эти величины 14,6 и 14,78 ккал/мол, т. е. практически идентичны).

Было бы заманчиво отождествить лимитирующий активационный процесс с конформационным переходом в рибосоме в каком-либо этапе трансляции (например, с обратимым разрывом водородных связей в рРНК). Однако дело обстоит сложнее. Если бы лимитирующим процессом был подобный переход, зависимость между нуклеотидным составом и энергией активации была бы обратной.

Известно, однако, что пара гуанин — цитозин является наилучшим донором — акцептором электронов (⁴). Можно предположить, что в процессе трансляции имеет место перенос энергии по рРНК, образующей комплекс с переносом заряда, например с пептидил — трансферазного центра рибосомы до контакта между субъединицами. Иными словами, рибосомы, если наша гипотеза верна, должны обладать полупроводниковыми свойствами и их электропроводность, определяющая скорость биосинтеза белков и в конечном счете скорость роста клеток, должна экспоненциально возрастать с температурой, согласно уравнению Вант-Гоффа — Аррениуса.

Для проверки этой гипотезы мы сравнили температурные зависимости скорости роста некоторых организмов и электропроводности выделенных из них сухих рибосом. В опытах были использованы мезофильная бактерия *Escherichia coli* штамм MRE-600, термофильный штамм *Bacillus coagulans*, психрофил *Spiritosoccus laurentii* штамм 1611 из коллекции кафедры биологии почв (биолого-почвенный факультет МГУ). Кроме того исследовалась температурная зависимость включения меченых аминокислот в суспензию аспитных клеток Кребс II в среде Эрла. В опытах использовался градиентный политермостат, позволяющий из-

мерять скорости роста сразу при 10 значениях температуры. Аликвоты микроорганизмов высевались в пробирки на скошенную поверхность агаризованной среды, оптимальной для данного вида, и после экспозиции смывались равными объемами воды; концентрация измерялась фотоэлектродориметром ФЭК-56.

Рибосомы, выделенные из бактериальной массы согласно общепринятой методике, высаливались сульфатом аммония (42 г на 100 мл раствора) и сохранялись на холоду; затем порции осадка диализовались в течение ночи против летучего ацетатно-аммониевого буфера 0,001 M Mg^{2+} и центрифугировались при 105 000 g 90 мин. Осадок ресуспендировался в нескольких каплях того же буфера без Mg^{2+} до состояния густой суспензии, которая наносилась на электроды из алюминия, золота, бронзы, свинца или молибдена, напыленных или приклеенных эпоксидной смолой к слюдяной подложке (щелевая или растровая поверхностная ячейка ⁽⁵⁾). Образец высушивался в токе сухого азота, прошедшего через систему

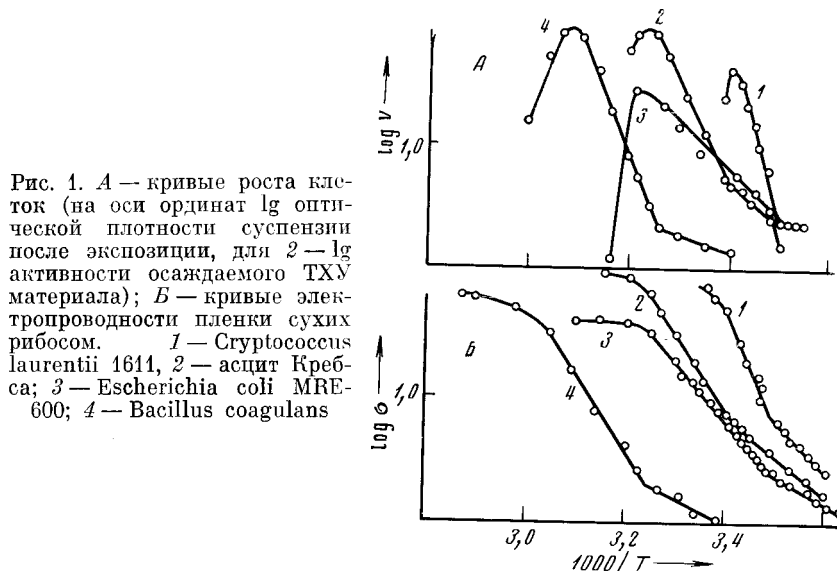


Рис. 1. А — кривые роста клеток (на оси ординат $\lg$ оптической плотности суспензии после экспозиции, для 2 — $\lg$ активности осаждаемого ТХУ материала); Б — кривые электропроводности пленки сухих рибосом. 1 — *Cryptococcus laurentii* 1611, 2 — асцит Кребса; 3 — *Escherichia coli* MRE-600; 4 — *Bacillus coagulans*

трубок с хлористым кальцием и пятиокисью фосфора, до образования твердой пленки, а затем тренировался в азоте при температуре 50—60° 2—3 часа. При измерении электропроводности на образец, термостатированный азотом, подавался постоянный ток от 5 до 100 в. Сопротивление образцов было порядка 0,1—1 Ом; для измерения тока использовался электрометрический усилитель У1-2. Температура образца измерялась термонпарой, прижатой к подложке.

Результаты представлены на рис. 1 и сводятся к следующему. Кривые роста всех изученных организмов однотипны. Можно различать две критические температуры; между ними расположена зона температурного оптимума, в которой скорость роста определяется уравнением Вант-Гоффа — Аррениуса. На первой критической температуре наблюдается перелом кривой. На второй, означающей верхнюю границу оптимальной зоны, — выход на плато и затем резкое падение скорости развития, означающее гибель клеток в результате инактивации ферментов.

Электропроводность рибосом соответствующих организмов возрастает с температурой симбатно. Переломы на первой критической температуре с точностью ошибки измерения идентичны (коэффициент корреляции между первой критической температурой в случае роста клеток и электропроводностью их рибосом близок к единице). В оптимальной зоне пленка сухих рибосом отвечает единственному общему для всех классов полу-

проводников правилу: электропроводность ее экспоненциально возрастает с температурой согласно уравнению $\sigma = \sigma_0 \exp - \frac{\Delta E}{kT}$. Естественно, ΔE в том и другом случае не совпадают, так как использованные нами образцы микрогетерогенны: в результате сопротивления межрибосомных промежутков получаются низкие величины электропроводности и повышенные значения ΔE (³, ⁶). Измерения на переменном токе высокой частоты дали значительно более высокие величины электропроводности образцов и низкие — ΔE (о результатах этих опытов будет сообщено в другой нашей работе). Выше второй критической температуры пленка сухих рибосом ведет себя как квазиметаллический (вырожденный) проводник (все носители участвуют в токе и σ не зависит от температуры).

Случайность совпадения температурных кривых столь разных процессов, как рост клеток и электропроводности выделенных из них рибосом, представляется нам невероятной.

Поэтому мы можем утверждать, что исходная гипотеза о функциональном значении электропроводности рибосом в данном случае подтверждается. Выполняемые нами в настоящее время работы должны пролить свет на природу носителей тока в рибосомных пленках и механизм увеличения их подвижности или концентрации с повышением температуры.

В заключение мы выражаем благодарность Р. С. Шакулову, И. В. Скарлат, В. А. Гиневской за предоставление культуры и рибосом асцита Krebs II.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступило
7 X 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ J. Monod, *La Croissance des cultures bacteriennes*, Paris, 1942. ² J. L. Ingram, *J. Bacteriol.*, **76**, 75 (1958). ³ Б. М. Медников, В. А. Носков, *ДАН*, **172**, 468 (1967). ⁴ Б. Пюльман, А. Пюльман, *Квантовая биохимия*, М., 1965. ⁵ Ф. Гутман, А. Лайонс, *Органические полупроводники*, М., 1970. ⁶ Л. И. Богуславский, А. В. Влаников, *Органические полупроводники и полимеры*, «Наука», 1968.