

УДК 577.11.577.23

БИОХИМИЯН. П. ЮРИНА, В. И. ЧУДИНА, Л. К. ОСНИЦКАЯ,
М. С. ОДИНЦОВА, академик А. И. ОПАРИН**РИБОСОМЫ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ**

Исследование белоксинтезирующего аппарата фотосинтезирующих бактерий — этой древней группы микроорганизмов представляет большой интерес с эволюционной точки зрения. Как известно, клетки фотосинтезирующих эукариотов содержат два типа рибосом: 80 S-рибосомы в цитоплазме и 70 S-рибосомы в хлоропластах. По ряду свойств 70 S-рибосомы хлоропластов сходны с бактериальными рибосомами. В связи с проблемой происхождения и эволюции пластид интересно было изучить рибосомы прокариотов с примитивным типом фотосинтеза, фотосинтетический аппарат которых представлен относительно простой ламеллярной системой.

Имеются несколько работ по исследованию физико-химических свойств рибосом и их субъединиц, а также рибосомной РНК фотосинтезирующих бактерий (¹⁻³).

Настоящая работа посвящена выделению и характеристике рибосом двух видов пурпурных бактерий: *Rhodospseudomonas gelatinosa* (сем. *Athiorhodaceae*) и *Chromatium vinosum* (сем. *Thiorhodaceae*).

В опытах использовали 4-суточные культуры (логарифмическая фаза роста), выращенные по методу, принятому в лаборатории. Методы выделения рибосом, суммарного рибосомального белка, аминокислотного анализа и определения плавучей плотности рибосом описаны ранее (^{6, 7}).

Рибосомы *Rps. gelatinosa* и *Ch. vinosum* имели типичный спектр поглощения в у.-ф. свете E_{260}/E_{280} 1,86 и 1,93; $E_{\max}/E_{\min}$ 1,40 и 1,77, и содержали соответственно 59 и 55% РНК, 41 и 45% белка (РНК/белок 1,44 и 1,22) *.

Исследование препаратов рибосом из клеток *Rps. gelatinosa* и *Ch. vinosum* в аналитической ультрацентрифуге показало, что они содержат преимущественно мономеры рибосом (рис. 1); иногда имелись также незначительные по величине пики димеров и субъединиц. Белковые примеси в препаратах отсутствовали. Экстраполяцией полученных в опыте значений коэффициентов седиментации мономеров рибосом к нулевой концентрации были получены величины $s_{20, w}^0$: для *Rps. gelatinosa* 69,0 и для

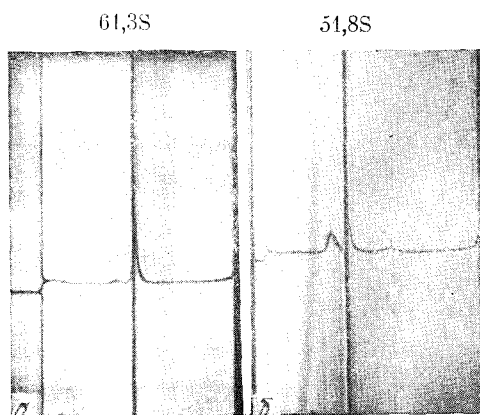


Рис. 1. Седиментационные диаграммы рибосом *Rps. gelatinosa* (а) и *Ch. vinosum* (б). 37 020 об/мин; температура 20°. Снимки сделаны через 16 мин. после достижения скорости. Движение пиков слева направо

* Отношения E_{260}/E_{280} , $E_{\max}/E_{\min}$, РНК/белок являются средними из 3—5 определений.

Аминокислотный состав белков рибосом

	<i>Halobact. cutirub- rum</i> (1)	<i>Rps. gela- tinosa</i>	<i>Chromati- um vino- sum</i> (2)	<i>E. coli</i> (3)	Горох (4)	Печень крысы (5)
Аспарагиновая кислота	13,5	9,46	8,30	8,30	9,5	8,06
Глутаминовая »	14,7	12,43	11,55	10,08	10,2	8,87
Глицин	—	11,91	10,39	8,18	8,1	7,72
Аланин	11,7	13,67	11,06	10,98	8,4	8,58
Валин	10,0	6,44	6,44	9,63	7,4	7,98
Лейцин	7,0	7,93	7,18	7,40	8,7	8,79
Изолейцин	4,4	4,61	3,72	5,51	5,7	4,92
Треонин	7,4	4,75	4,30	5,22	5,6	5,06
Серин	7,7	4,59	4,62	4,38	5,9	4,85
Пролин	4,5	5,80	2,10	3,67	5,0	4,93
Тирозин	1,9	1,25	1,51	1,78	3,0	2,93
Фенилаланин	2,2	2,76	2,50	3,03	4,1	3,80
Метионин	1,3	1,42	1,45	2,40	1,6	2,14
Половина цистина	0,0	Сл.	Сл.	0,53		1,09
Лизин	4,4	3,5	5,15	9,01	9,1	9,63
Гистидин	2,2	1,15	1,36	1,91	1,4	2,38
Аргинин	7,1	4,34	6,76	2,30	6,3	7,53
Аммиак	—	4,28	10,67	7,08	12,8	7,36
Отношение $\frac{\text{лиз.} + \text{гист.} + \text{арг.}}{\text{глут.} + \text{асп.}}$	0,49	0,41	0,67	0,99	0,85	1,15

Ch. vinosum 70,2 ед. Сведберга. Таким образом, по величине константы седimentации рибосомы обоих видов фотосинтезирующих бактерий являются типичными бактериальными рибосомами. Значения $s_{20,w}^0$, полученные нами для рибосом *Rps. gelatinosa* и *Ch. vinosum*, близки к константам седimentации рибосом различных видов фотосинтезирующих несерных бактерий (1, 2).

Плотностная характеристика рибосом *Rps. gelatinosa* и *Ch. vinosum* приведена на рис. 2. Как видно из рис. 2, плавучая плотность рибосом

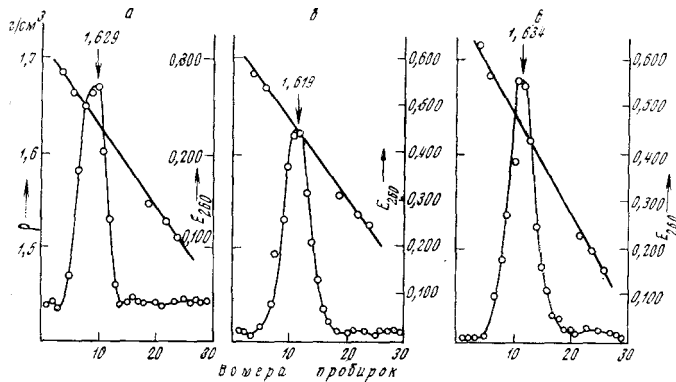


Рис. 2. Плотностное распределение рибосом *Rps. gelatinosa* (а), *Ch. vinosum* (б), *E. coli* (в) в градиенте CsCl

Rps. gelatinosa составляет $1,623 \pm 0,007$ г/см³ (по данным трех независимых опытов), а рибосом *Ch. vinosum* $1,616 \pm 0,004$ г/см³ (четыре независимых опыта). Плавучая плотность рибосом *E. coli* * в наших опытах составляла $1,639 \pm 0,005$ г/см³, что совпадает с данными, имеющимися в литературе (8). Выделенные препараты рибосом фотосинтезирующих бак-

* Приносим глубокую благодарность Н. А. Барулиной за предоставленный препарат рибосом.

герий были гомогенны по плотности. Используя эмпирическую формулу ⁽⁹⁾, выражающую зависимость плавучей плотности рибосомных частиц от относительного содержания в них белка, было рассчитано, что рибосомы *Rps. gelatinosa* содержат 37,9% белка (РНК/белок 1,64), а рибосомы *Ch. vinosum* 39% белка (РНК/белок 1,56). Эти данные довольно хорошо согласуются с приведенными выше результатами химического определения белка и РНК в рибосомах. Как видно, рибосомы фотосинтезирующих бактерий содержат несколько больше белка, чем рибосомы *E. coli* (35—37% белка; РНК/белок 1,8) ⁽⁹⁾. 80S-рибосомы животного и растительного происхождения содержат существенно больше белка (около 50%; отношение РНК/белок близко к 1), чем бактериальные 70S-рибосомы (в том числе рибосомы фотосинтезирующих бактерий) ^(9, 10).

На рис. 3 представлены типичные электрофореграммы основных белков рибосом *Rps. gelatinosa* и *Ch. vinosum*. В использованных нами условиях белки этих рибосом делились на 30 полос, картина распределения которых воспроизводилась от опыта к опыту и в разных препаратах рибосом.

Электрофореграммы очень сходны у обоих видов фотосинтезирующих бактерий. Особенно хорошо это видно по распределению интенсивно окрашенных полос. Наблюдаемые различия касаются 6—7 минорных компонентов, расположенных в верхней части колонки. При сравнении основных белков рибосом фотосинтезирующих бактерий и энтеробактерии *E. coli* (рис. 3, 4) нетрудно заметить, что по числу белковых компонентов эти рибосомы очень близки. Однако наблюдаются значительные различия в распределении белковых полос, особенно в средней части колонки. Наиболее убедительно эти различия видны в опытах с расщепленным гелием (рис. 3, з, д).

В кислых белках рибосом *Rps. gelatinosa* и *Ch. vinosum* в использованных нами условиях обнаружено 8—9 компонентов, в кислых белках рибосом *E. coli* 10. Картина электрофоретического распределения белковых полос рибосом двух видов фотосинтезирующих бактерий при pH 8,3 очень сходна (рис. 4з, д) и существенно отличается от распределения кислых белков рибосом *E. coli* (рис. 4).

В табл. 1 приведен аминокислотный состав белков рибосом *Rps. gelatinosa* и *Ch. vinosum*. Для сравнения в таблицу включены данные по аминокислотному составу белков рибосом различного происхождения.

Как видно из табл. 1, аминокислотный состав белков рибосом разных организмов довольно близок и характеризуется сравнительно высоким

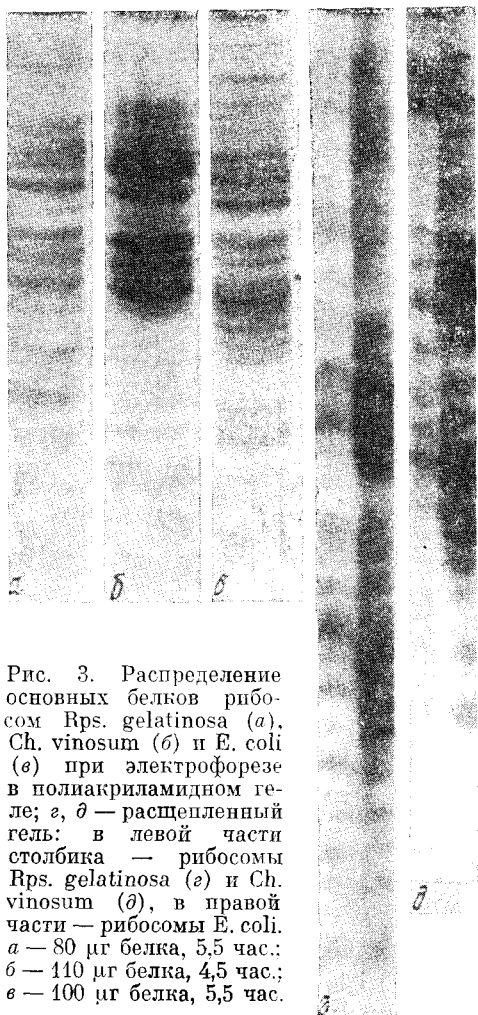


Рис. 3. Распределение основных белков рибосом *Rps. gelatinosa* (а), *Ch. vinosum* (б) и *E. coli* (в) при электрофорезе в полиакриламидном геле; г, д — расщепленный гель: в левой части столбика — рибосомы *Rps. gelatinosa* (г) и *Ch. vinosum* (д), в правой части — рибосомы *E. coli*. а — 80 мкг белка, 5,5 час.; б — 110 мкг белка, 4,5 час.; в — 100 мкг белка, 5,5 час.

содержанием основных аминокислот. Обращает на себя внимание значительно меньшее содержание лизина в рибосомах фотосинтезирующих бактерий, чем в рибосомах *E. coli*, а также в рибосомах растительного и животного происхождения. По содержанию этой аминокислоты белки рибосом *Rps. gelatinosa* и *Ch. vinosum* близки к галофильной бактерии *Halobacterium cutirubum*. Величины отношения основных аминокислот

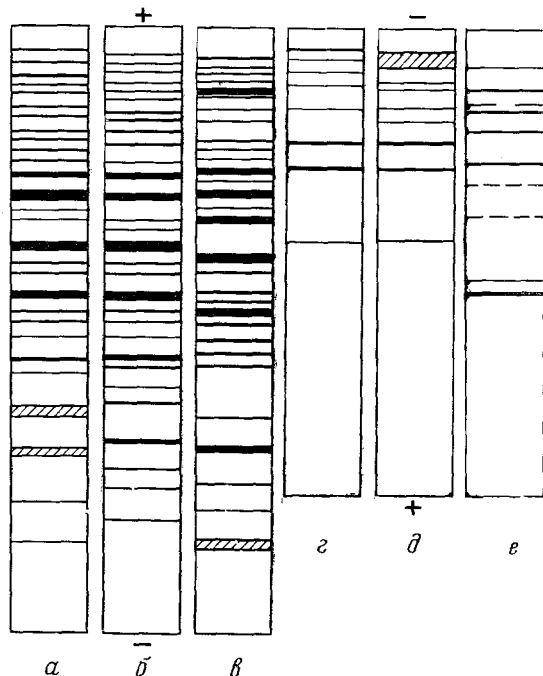


Рис. 4. Схема распределения белков рибосом *Rps. gelatinosa* (а, б), *Ch. vinosum* (б, д), *E. coli* (в, е)

к кислым у фотосинтезирующих бактерий меньше, чем у других типов рибосом, что свидетельствует об увеличении кислотности полипептидных цепей в рибосомах этих организмов.

Данные по электрофоретической подвижности и аминокислотному составу белков рибосом *Rps. gelatinosa* и *Ch. vinosum* указывают на их значительное сходство, что подтверждает таксономическое положение изученных видов бактерий. В соответствии с результатами, полученными нами ранее (⁶), белки рибосом фотосинтезирующих бактерий не обнаруживают сходства с таковыми хлоропластов. По-видимому, филогенетическая связь между фотосинтезирующими бактериями и хлоропластами мало вероятна.

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

Поступило
24 I 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ M. M. Taylor, R. Storck, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 52, 958 (1964). ² D. I. Friedman, B. Pollara, E. D. Gray, J. Mol. Biol., 22, 53 (1966). ³ M. M. Taylor, J. E. Glasgow, R. Storck, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 57, 164 (1967). ⁴ B. Marrs, S. Kaplan, J. Mol. Biol., 49, 297 (1970). ⁵ A. Robinson, J. Sykes, Biochim. et biophys. acta, 238, 99 (1971). ⁶ Н. П. Юрина, В. И. Чудина и др., Мол. биол., 6, 153 (1972). ⁷ C. F. Brunk, Vagn Leick, Biochim. et biophys. acta, 179, 136 (1969). ⁸ A. S. Spirin, N. V. Belitzina, M. I. Lerman, J. Mol. Biol., 14, 611 (1965). ⁹ Л. И. Овчинников, Т. Ф. Быстрова, А. С. Спирин, ДАН, 185, 210 (1969). ¹⁰ Н. П. Юрина, М. С. Одинова, А. И. Опарин, ДАН 205, № 4 (1972). ¹¹ S. T. Bayley, J. Mol. Biol., 15, 420 (1966).