

В. Ф. АРАКЕЛЯН, Л. В. ГОФШТЕЙН, М. С. ОДИНЦОВА

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОСНОВНЫХ БЕЛКОВ РИБОСОМ И ГИСТОНОВ ЗАРОДЫШЕЙ ПШЕНИЦЫ МЕТОДОМ ДИСКОВОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА В ПОЛИАКРИЛАМИДНОМ ГЕЛЕ

(Представлено академиком А. И. Опарным 23 XII 1971)

Одной из характерных особенностей основных белков является их способность комплексоваться с нуклеиновыми кислотами. ДНК хромосом эукариотов связана преимущественно с гистонами, в рибосомах большая часть белков имеет основной характер и связана с РНК. До сих пор неясен вопрос о месте образования основных белков в клетке и их возможном передвижении между ядром и цитоплазмой. Известно, что в ядре образуются предшественники рибосом — комплексы РНК и основных белков. О месте синтеза гистонов имеются данные, указывающие на синтез гистонов как на рибосомах цитоплазмы, так и на хроматине в ядре.

Большой интерес представляет сравнительное исследование химических и физико-химических свойств основных белков хромосом (гистонов) и основных белков рибосом.

При помощи методов хроматографии<sup>(1)</sup> и электрофореза<sup>(2)</sup>, а также анализа аминокислотного состава<sup>(3, 4)</sup> обнаружено некоторое сходство между этими белками.

Целью настоящей работы было сравнение основных белков рибосом и гистонов зародышей пшеницы по аминокислотному составу и методом дискового электрофореза в полиакриламидном геле (ПАГ). Кроме сравнительных исследований суммарных препаратов гистонов и белков рибосом, была предпринята попытка фракционирования препаратов перед электрофорезом. Материалом служили коммерческие зародыши пшеницы (производство Польской Народной Республики). Препараты суммарных белков цитоплазматических рибосом получали по методу Спитник-Элсон<sup>(5)</sup>, препараты суммарных гистонов — по ранее описанному методу<sup>(6)</sup>. Определение аминокислотного состава проводили по методу Мура и др.<sup>(7)</sup> в автоматическом анализаторе аминокислот фирмы «Hitachi», модель KLA-3. Белки гидролизовали 24 часа при 105° в 6*N* HCl в атмосфере азота. Соотношение навески и кислоты 1 : 500.

Суммарные препараты белков рибосом и гистонов фракционировали по методу, принятому для разделения гистонов<sup>(8)</sup>. Электрофорез проводили в 10-процентном по акриламиду геле, содержащем 0,15% N,N'-метиленабисакриламида, 0,5% ТЕМЕД, 1,2% персульфата аммония<sup>(9)</sup> и 6*M* мочевины. Полимеризацию гелей проводили в термостате при температуре 26° в течение 120 мин. На колонку наносили 100—150 мкг белка (белки рибосом растворяли в 0,1*M* фосфатном буфере pH 7,4, гистоны — в 0,1*M* растворе HCl; растворы белков содержали 6*M* мочевины). Электрофорез проводили при силе тока 4,0 ма на трубку в течение 4 час. В качестве электродного буфера использовали 0,07*M* раствор β-аланина, подкисленный уксусной кислотой до pH 4,5. После электрофореза белки окрашивали 0,5% раствором амидового черного в 7% уксусной кислоте в течение 20 мин. Избыток красителя удаляли смесью метанол — вода — уксусная кислота (5 : 5 : 1).

Использовали следующие реактивы: акриламид — «Koch a. Light», Англия; N,N'-метиленабисакриламид — «Schuchard», München, ФРГ; амидовый черный — «Serva», Heidelberg, ФРГ; мочевина (х.ч.) — Черкасского завода химических реактивов; β-аланин — «Koch a. Light», Англия.

Ниже приводятся электрофореграммы суммарных препаратов основных белков рибосом и гистонов (рис. 1). Как видно, белки рибосом и гистоны характеризуются разной степенью гетерогенности. При этом

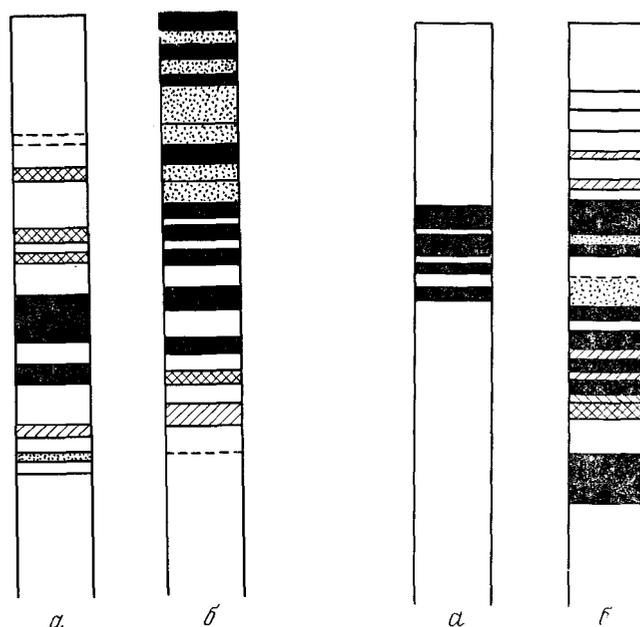


Рис. 1

Рис. 2

Рис. 1. Дисковый электрофорез суммарных препаратов основных белков цитоплазматических рибосом (б) и гистонов (а) зародышей пшеницы

Рис. 2. Дисковый электрофорез фракций гистонов (а) и основных белков цитоплазматических рибосом (б)

зона распределения гистонов не выходит за пределы зоны распределения основных белков рибосом. Электрофоретические картины распределения белков на колонках полиакриламидного геля представляют собой суммарный эффект подвижности белка в электрическом поле и его молекулярного веса. Из литературных данных известно, что молекулярные веса гистонов и основных белков рибосом — величины одного порядка<sup>(10, 11)</sup>. При электрофорезе в 10-процентном по акриlamиду геле молекулярные веса не оказывают большого влияния на разделение компонентов, решающими являются различия в основности отдельных фракций. Поэтому казалось целесообразным провести фракционирование основных белков рибосом и гистонов методом, используемым для разделения гистонов (при различных условиях кислотности среды). На рис. 2 приведены электрофореграммы фракций основных белков рибосом и гистонов, подобных по способу разделения. Как видно из представленных рисунков, фракция гистонов (рис. 2а) и подобная ей фракция основных белков рибосом (рис. 2б) сильно различаются по количеству входящих в их состав компонентов. В составе фракции гистонов можно различить 4 ясно выраженных компонента, в составе подобной ей фракции рибосом обнаруживается 16 компонентов, причем 4 из них расположены в зоне распределения фракций гистонов  $f_1$ , а остальные обладают большей электрофоретической подвижностью. Число белковых компонентов с меньшей электрофоретической подвижностью, чем у гистонов, незначительно.

Из данных табл. 1 можно видеть, что содержание ряда аминокислот очень близко в обоих типах белков. В то же время относительное содержание суммы аминокислот алифатического ряда (аланин, глицин)

Аминокислотный состав основных белков рибосом и гистонов зародышей пшеницы, мол. на 100 мол. белка \*

Аминокислоты	Белки рибосом **	Гистоны **	Аминокислоты	Белки рибосом **	Гистоны **
Лизин	$\frac{10,6}{10,4}$	$\frac{11,5}{17,6}$	Глицин	$\frac{9,8}{8,4}$	$\frac{9,1}{8,1}$
Гистидин	$\frac{4,1}{2,4}$	$\frac{2,0}{1,5}$	Аланин	$\frac{10,1}{9,1}$	$\frac{14,1}{15,5}$
Аргинин	$\frac{6,0}{8,0}$	$\frac{8,7}{7,3}$	Валин	$\frac{8,5}{7,5}$	$\frac{5,7}{5,5}$
Асп. кислота	$\frac{8,4}{8,3}$	$\frac{6,0}{4,4}$	Метионин	$\frac{4,5}{4,9}$	$\frac{0,7}{—}$
Глут. кислота	$\frac{12,7}{9,7}$	$\frac{7,2}{8,6}$	Изолейцин	$\frac{4,4}{4,7}$	$\frac{5,4}{12,3}$
Треонин	$\frac{4,1}{5,0}$	$\frac{5,6}{5,4}$	Лейцин	$\frac{8,2}{7,6}$	$\frac{7,5}{12,3}$
Серин	$\frac{5,0}{5,4}$	$\frac{5,3}{4,9}$	Тирозин	$\frac{2,6}{2,7}$	$\frac{2,0}{1,7}$
Пролин	$\frac{3,5}{4,4}$	$\frac{6,2}{5,1}$	Фенилаланин	$\frac{3,5}{3,4}$	$\frac{2,3}{2,2}$

\* Потери при гидролизе не учитывали.

\*\* Числа над чертой — данные опытные, под чертой — взятые из литературных источников; для белков рибосом — (10), для гистонов — (11).

в гистонах выше за счет более высокого содержания в них аланина. Что касается аминокислот с разветвленной цепью (валин, лейцин, изолейцин), то видно, что гистоны гораздо беднее валином, содержание же лейцина и изолейцина и в рибосомальных белках, и в гистонах одинаково. Сумма кислых аминокислот в рибосомальных белках равна 18–20 мол.%, в гистонах 13, относительное содержание суммы основных аминокислот в рибосомальных белках и гистонах находится на одном уровне. Поэтому значение соотношений основных аминокислот к кислым будет сдвинуто в гистонах в сторону основных за счет более низкого содержания в них кислых аминокислот.

Рассматривая данные по аминокислотному составу суммарных гистонов и основных белков рибосом в связи с их гетерогенностью, можно заключить, что ряд различий в относительном содержании некоторых аминокислот может отражать разницу во фракционном составе гистонов и основных белков рибосом. В то же время нельзя исключить, исходя из полученных данных по электрофорезу, что в составе гистонов и основных белков рибосом могут существовать молекулы, содержащие идентичные пептидные цепи. Для доказательства этого необходимы дальнейшие исследования пептидных карт и аминокислотного состава отдельных фракций этих белков.

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

Поступило  
23 XII 1971

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> I. Leslie, Nature, 189, 260 (1964). <sup>2</sup> D. T. Lindsay, Arch. Biochim. and Biophys., 113, 687 (1966). <sup>3</sup> D. M. P. Phillips, Progr. Biophys. Chem., 12, 211 (1964). <sup>4</sup> H. Busch, W. J. Steele et al., J. Cell. and Comp. Physiol., 62, Suppl. 1, 95 (1963). <sup>5</sup> P. Spitnik-Elson, Biochim. Biophys. Res. Commun., 18, 557 (1965). <sup>6</sup> Л. В. Гофштейн, Усп. биол. хим., 12 (1971). <sup>7</sup> S. Moore, D. H. Spackman, W. H. Stein, Anal. Chem., 30, 1185 (1958). <sup>8</sup> E. W. Johns, Biochem. J., 92, 55 (1964). <sup>9</sup> R. Gesteland, F. Staechelin, J. Mol. Biol., 24, 149 (1967). <sup>10</sup> F. U. Wolfe, C. M. Kay, Canad. J. Biochem., 46, 373 (1968). <sup>11</sup> E. W. Johns, J. A. V. Butler, Biochem. J., 84, 436 (1962).