

Т. Н. ЕВРЕИНОВА, С. Б. СТЕФАНОВ, Т. В. МАМОНТОВА

СТРУКТУРА КОАЦЕРВАТНЫХ КАПЕЛЬ В ЭЛЕКТРОННОМ МИКРОСКОПЕ

(Представлено академиком А. И. Опариным 24 IV 1972)

В коацерватных каплях происходит концентрирование полимерных молекул, например, полилизина + полиадениладениловой кислоты, а также белков + нуклеиновых кислот, углеводов, липидов и т. д.

Размер капель, содержание в них воды и полимерных молекул могут быть такими же, какими они представлены в клетках. Кроме того, в коацерватных системах моделированы каталитические и ферментативные реакции. Все это дает право рассматривать и использовать капли как одну из возможных предклеточных моделей (², ⁵). Однако тонкая структура капель до сих пор не изучалась, так как большинство известных коацерватных систем не стойки. Они содержат капли, которые довольно быстро сливаются (коалесцируют) друг с другом, образуя слои.

За последние годы удалось получить устойчивые капли, сохраняющиеся годами, что и дало возможность провести предлагаемое исследование (³).

Целью работы было выяснение тонкой структуры белково-углеводных, белково-нуклеиновых коацерватных капель, стабилизированных низкомолекулярными продуктами ферментных окислительных реакций, моделированных в коацерватных системах (³).

Объектами работы служили капли следующих коацерватных систем.

1. Белково-нуклеиновая система (гистон — ДНК) с ферментом пероксидазой (в мл): H₂O дистиллированная 0,1; 0,5 M ацетатный буфер pH 6,0—0,2; 0,5% ДНК 0,4; 0,01% пероксидаза 0,01; 1% гистон 0,5; 0,5% H₂O₂ 0,2; 0,5% пирогаллол 0,5.

2. Белково-углеводная система (гистон—гумми) с ферментом полифенолоксидазой (в мл): H₂O дистиллированная 0,3; 0,5 M ацетатный буфер pH 6,0—0,2; 0,67% гуммипарабик 0,5; 0,01% полифенолоксидаза 0,1; 1% гистон 0,4; 1% пирокатехин 0,5;

3. Белково-нуклеиновая коацерватная система (гистон — ДНК) с ферментом полифенолоксидазой (в мл): H₂O дистиллированная 0,3; 0,5 M ацетатный буфер pH 6,0—0,2; 0,5% ДНК 0,4; 0,01% полифенолоксидаза 0,1; 1% гистон 0,5; пирокатехин 0,5;

Электронно-микроскопические препараты капель готовили на пленке-подложке методом адсорбции, предложенным Драгановым-Стефановым (¹). Пленку-подложку получали из раствора аптечного коллодия на амилацетате. Предварительно раствор коллодия очищали от низкомолекулярной нитроклетчатки экстракцией спирта. Электронно-микроскопическую сеточку с пленкой-подложкой накладывали на 0,2—0,25 мл коацерватной системы на 3—5 сек. для адсорбции капель. Затем сеточку помещали на фильтровальную бумагу для отсасывания жидкости. При таком способе нанесения коацерватных капель на пленку фон препарата оставался чистым и капли сохранялись. Поэтому не требовалась дополнительная очистка и фиксация, которые могли бы вызывать нежелательные изменения капель. Капли просматривали в электронном микроскопе УЭМ-100-В при увеличении от 4800 X до 50 000 X.

Электронно-микроскопические исследования были проведены с белково-нуклеиновыми и белково-углеводными коацерватными каплями. Капли были стабилизированы продуктами ферментативного окисления пирогаллола в пурпурогаллин, пирокатехина в хипон в коацерватных системах. Концентрация окисленных продуктов в индивидуальных каплях составляла от 0,03 до 1,6% от сухой массы капель⁽²⁾. В электронном микроскопе капли всех систем сохраняют свою сферическую форму. Это особенно хорошо видно, когда разрывается пленка-подложка и капли можно наблюдать в профиль. Капли не «вскипают» при удалении из них воды под действием вакуума и электронного пучка в электронном микроскопе.

Фотографии коацерватных капель в электронном микроскопе представлены на рис. 1 (см. вкл. к стр. 235), из которого следует: 1) коацерватные капли имеют поверхностные пленкообразные слои различного строения — с зубчиками (выступами) и без них; 2) капли могут объединяться в колонии, не сливаясь друг с другом.

Контакт капель осуществляется с помощью перетяжек, образованных поверхностными слоями или зубчиками. Мы и раньше наблюдали в интерференционном микроскопе интересное свойство капель давать скопления без слияния капель. Однако каким способом капли связываются друг с другом, оставалось неясным.

При разрыве пленки в электронном микроскопе вся колония из капель сохраняется и перемещается в другое место. Следовательно, связь капель в колониях достаточно прочная. Возникновение колоний, как нам кажется, является весьма важным этапом эволюции предклеточных структур на пути к жизни. Большинство капель непрозрачны в электронном микроскопе. Однако в некоторых каплях удалось увидеть их строение. На рис. 1г представлена фотография коацерватной капли с очень сложной внутренней структурой. Изучение таких структур и их расшифровка являются предметом наших дальнейших исследований.

Авторы благодарят акад. А. И. Опарина за его постоянное внимание и помощь в нашей работе.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Институт биофизики
Академии наук СССР
Пушкино-на-Оке

Поступило
14 IV 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- 1 С. Б. Драганов-Стефанов, Бюлл. эксп. биол. и мед., № 5 (1962).² Т. Н. Евреинова. Концентрирование веществ и действие ферментов в коацерватах, «Наука», 1966. ³ Т. Н. Евреинова, Т. В. Мамонтова и др., Журн. эволюцион. биохим. и физиол., 7, 23 (1971). ⁴ А. И. Опарин, Жизнь, ее природа, происхождение и развитие, Изд. АН СССР, 1960. ⁵ Т. Н. Евреинова, W. N. Karnaukhov et al., J. Coll. and Interface Sci., 36, 18 (1971).