

Б. Р. АРАКЕЛЯН, Л. В. ГОФШТЕЙН, Н. П. ЮРИНА, М. С. ОДИНЦОВА

ПЕПТИДНЫЕ КАРТЫ ФРАКЦИИ F1 ГИСТОНОВ И ПОДОБНОЙ ЕЙ ФРАКЦИИ ОСНОВНЫХ БЕЛКОВ РИБОСОМ ЗАРОДЫШЕЙ ПШЕНИЦЫ

(Представлено академиком А. И. Опариным 25 III 1974)

Ранее (¹) при сравнительном исследовании суммарных гистонов и основных белков рибосом зародышей пшеницы методом диск-электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) и по аминокислотному составу было обнаружено определенное сходство между этими белками, на основании чего высказано предположение о наличии в составе гистонов и основных белков рибосом идентичных пептидных цепей. Поскольку при электрофорезе в ПААГ было обнаружено, что некоторые белковые компоненты рибосом располагаются в зоне распределения фракции гистонов F1, казалось целесообразным сравнить пептидные карты фракции F1 гистонов и аналогичной по методу выделения фракции белков рибосом.

Материалом служили коммерческие зародыши пшеницы (производство ПНР). Препараты суммарных белков цитоплазматических рибосом получали по методу Спитник-Элсон (²), препараты суммарных гистонов — по ранее описанному методу (³). Белки рибосом и гистоны фракционировали по методу, принятому для гистонов (⁴). Электрофоретическое разделение проводили в системе, предложенной для белков рибосом (⁵) (β -аланиновый буфер, pH 4,5; 10% по акриламиду гель), и в системе, принятой для разделения гистонов (³) (глициновый буфер, pH 4,0; 15% по акриламиду гель). Для получения пептидных карт раствор белка, 2 мг/мл, в 0,2 M NH_4HCO_3 — NH_4OH -буфере, pH 8,5, переваривали 10 мг/мл трипсина в течение 20 час. при 37°. Электрофорез проводили при pH 6,5 на бумаге Ватман 3ММ в течение 45 мин. в системе растворителей: пиридин — уксусная кислота — вода (800 : 24 : 7200). Нисходящую хроматографию во втором направлении проводили при комнатной температуре в течение 18 час. в системе: пиридин — *n*-бутанол — уксусная кислота — вода (250 : 375 : 75 : 300). Пятна пептидов на хроматограмме окрашивали 0,5% раствором нингидрина в ацетоне (⁶).

На рис. 1 приведены диск-электрофореграммы суммарного препарата гистонов зародышей пшеницы, а также фракции F1 гистонов и подобной ей фракции белков рибосом. Трем компонентам F1 гистонов, обнаруживаемым при электрофорезе, соответствуют три наименее подвижных компонента суммарных гистонов, что можно видеть на представленном рисунке. Подобная по методу выделения фракция белков рибосом значительно более гетерогенна. Хотя условия проведения электрофореза не являются оптимальными для разделения основных белков рибосом, тем не менее было обнаружено, что белковые компоненты исследованного препарата рибосом обладают близкой с гистонами электрофоретической подвижностью. Для двух компонентов рибосомальных белков электрофоретическая подвижность совпадает с компонентами гистонов F1. В связи с тем, что получение достаточного для фракционирования количества белков рибосом затруднено, не удалось выяснить, чем обусловлены наблюдающиеся различия в электрофоретическом поведении фракции F1 гисто-

нов и полученной аналогичным методом фракции белков рибосом, а именно значительное количество белков, остающихся на старте, и более высокая гетерогенность рибосомальных белков.

На рис. 2 представлены пептидные карты триптического гидролизата белков фракции F1 гистонов и подобной ей фракции белков рибосом зародышей пшеницы. Как видно из рис. 2, общее число обнаруживаемых пептидов очень близко (35 во фракции F1 гистонов и 36 в подобной фракции белков рибосом). Отсутствие окраски на старте свидетельствует о том, что переваривание трипсином практически полное. Положение пептидов,

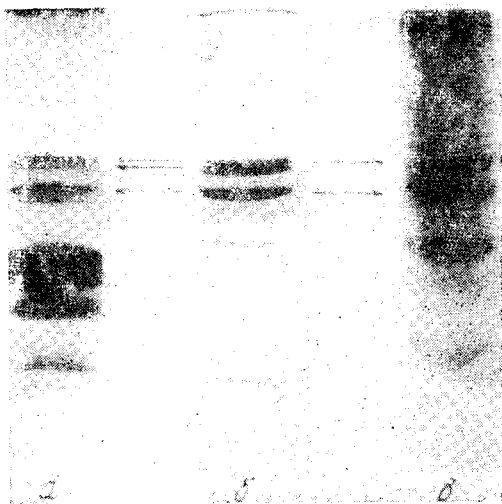
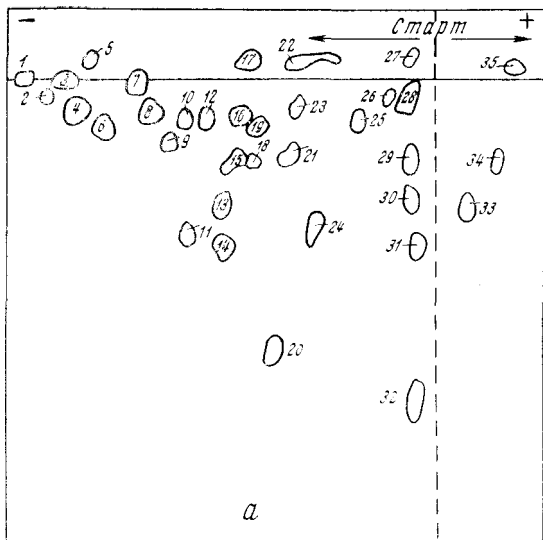


Рис. 1. Диск-электрофорез суммарного препарата гистона (а), фракции F1 гистонов (б) и аналогичной по методу выделения фракции белков рибосом (в) зародышей пшеницы. Электрофорез проводили в 15% по акриламиду геле (2) в течение 135 мин. при силе тока 5 ма на колонку. Стрелками обозначены белковые компоненты с одинаковой электрофоретической подвижностью

соответствующее их подвижности в исследованной системе, очень сходно в гидролизатах обоих изученных белков. При повторном получении пептидных карт не удалось обнаружить значительных и воспроизводимых различий. Особенно большое сходство наблюдается среди нейтральных пептидов (пятна 27–32 на рис. 2) и щелочных пептидов, обладающих низкой хроматографической подвижностью (рис. 2а, пятна 1–10 и 12; рис. 2б, пятна 1–13). Большое число пептидов в исследованных препаратах занимает одинаковое положение на пептидных картах (например, пятна 11, 13, 14, 17, 21, 22 и 14, 15, 17, 22, 24, 25 на рис. 2а и б соответственно).

Полученные данные с несомненностью свидетельствуют о значительном сходстве в первичной структуре гистоновой фракции F1 и аналогичной по методу выделения белковой фракции рибосом и существовании молекул в составе этих белков, содержащих родственные пептидные цепи. Исследование последовательности аминокислот пептидов триптического гидролизата позволило бы еще в большей мере доказать структурную гомологию этих белков.

Обнаруженное сходство пептидных карт гистонов F1 и подобной им фракции основных белков рибосом зародышей пшеницы представляет большой интерес. Возможно, что за синтез ряда белков гистоновой фрак-



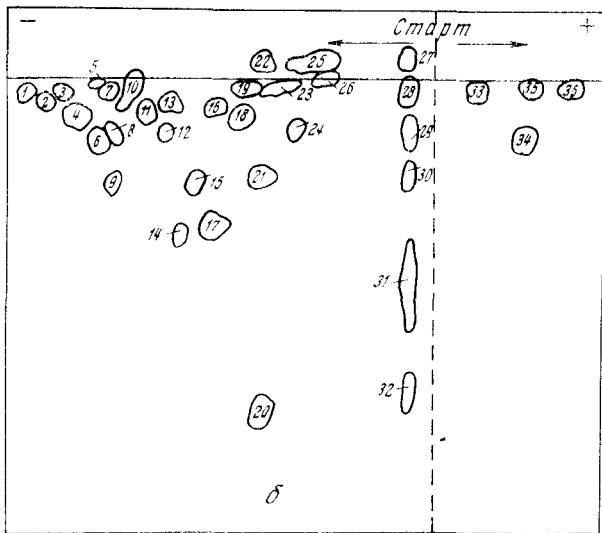


Рис. 2. Пептидные карты триптических гидролизатов фракции F1 гистонов (а) и аналогичной по методу выделения фракции белков рибосом (б). Пятна пептидов нумеровали по вертикали, начиная с левого верхнего угла

ции F₁ и некоторых белков рибосом в клетке ответственны одни и те же участки генома.

Авторы выражают благодарность Е. С. Северину за помощь, оказанную при анализе триптических пептидов.

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

Поступило
20 III 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Б. Р. Аракелян, Л. В. Гофштейн, М. С. Одинцова, ДАН, т. 206, 219 (1972).
² P. Spitnik-Elson, Biochim. Biophys. Res. Commun., v. 18, 557 (1963). ³ Л. В. Гофштейн, В. И. Сафонов, Н. М. Сисакян, ДАН, т. 167, 1168 (1966). ⁴ E. W. Johns, Biochem. J., v. 92, 55 (1964). ⁵ R. Gesteland, T. Staechelin, J. Mol. Biol., v. 24, 149 (1967).
⁶ R. H. Buckingham, L. A. Stocken, Biochem. J., v. 117, 509 (1970).