

В. Д. ВАСИЛЬЕВ

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ МАЛОЙ РИБОСОМНОЙ 30S СУБЧАСТИЦЫ

(Представлено академиком А. С. Спириным 12 IX 1974)

Для изолированных 30 S субчастиц бактериальных рибосом необходимы, по-видимому, более мягкие условия препарирования по сравнению с 50 S субчастицами и субчастицами рибосом животных. Негативным контрастированием, используемым в большинстве электронно-микроскопических исследований, долго не удавалось получить достаточно четких изображений 30 S субчастиц, которые не изменяли бы значительно своих размеров и формы (1-4). Некоторые важные детали строения малой субчастицы, общие для бактериальных рибосом и рибосом животных, впервые обнаружены при исследовании рибосом животных (5, 6). Продемонстрирована возможность получения и препарата негативно контрастированных изолированных 30 S субчастиц, однородных по размерам и форме (7).

Ранее нами было показано, что другой метод препарирования — высушивание изолированных 30 S субчастиц из замороженного состояния в вакууме с последующим оттенением вольфрамом — обеспечивает хорошее сохранение формы и размеров и выявление тонких деталей их морфологии (8). В настоящей работе предложена модель малой рибосомной субчастицы, содержащая новые морфологические детали, обнаруженные при исследовании образцов, препарированных указанными методами.

70 S рибосомы *E. coli* ME-600 получали по (9), а 30 S субчастицы — обычным способом разделения путем центрифугирования смеси 30 S и 50 S субчастиц в линейном сахарозном градиенте. Условия негативного контрастирования подбирали так, чтобы слой уранил-ацетата был минимальным. В качестве подложек использовали углеродные пленки толщиной около 10 Å. Пленки получали на поверхности свежего скола кристаллов каменной соли катодным распылением в атмосфере аргона с магнитной фокусировкой полого пучка (10). Высушивание 30 S субчастиц из замороженного состояния в вакууме и последующее оттенение вольфрамом проводили по (9). Препараты исследовали на микроскопе JEM-7A при 80 кв, с апертурной диафрагмой 30 мкм, при 50 000 или 60 000X. Сетки помещали в микроскоп препаратом к экрану, фотопластинки — в увеличитель, эмульсионной стороной от фотобумаги.

1. **Негативно контрастированные 30 S субчастицы.** Все частицы подразделяются на две неравные части, которые удобно называть «головкой» и «телом», как было принято при описании морфологии 40 S субчастиц рибосом из печени крыс (11). Преобладающими являются изображения частиц с наклонным по отношению к их продольной оси расположением головки (боковая проекция). В этой проекции тело субчастицы имеет треугольное очертание. Существенно отметить, что одна из энантиоморфных форм этого типа проекций (рис. 1, «левая», А, а) встречается более чем вдвое чаще другой (рис. 1, «правая», А, б). Почти

Рис. 1. А — негативно контрастированные уранил-ацетатом 30S субчастицы рибосом *E. coli*; Б — основные типы изображений негативно контрастированных 30S субчастиц. а, б — энантиоморфные формы изображений субчастиц в боковой проекции. 1-4 — см. текст

Рис. 2. А — высушенные из замороженного состояния в вакууме и оттененные вольфрамом под углом 70° 30S субчастицы рибосом *E. coli*; Б — основные типы изображений оттененных вольфрамом 30S субчастиц. а, б — вид сбоку, в — вид спереди, г — вид сзади. 1, 2 — см. текст

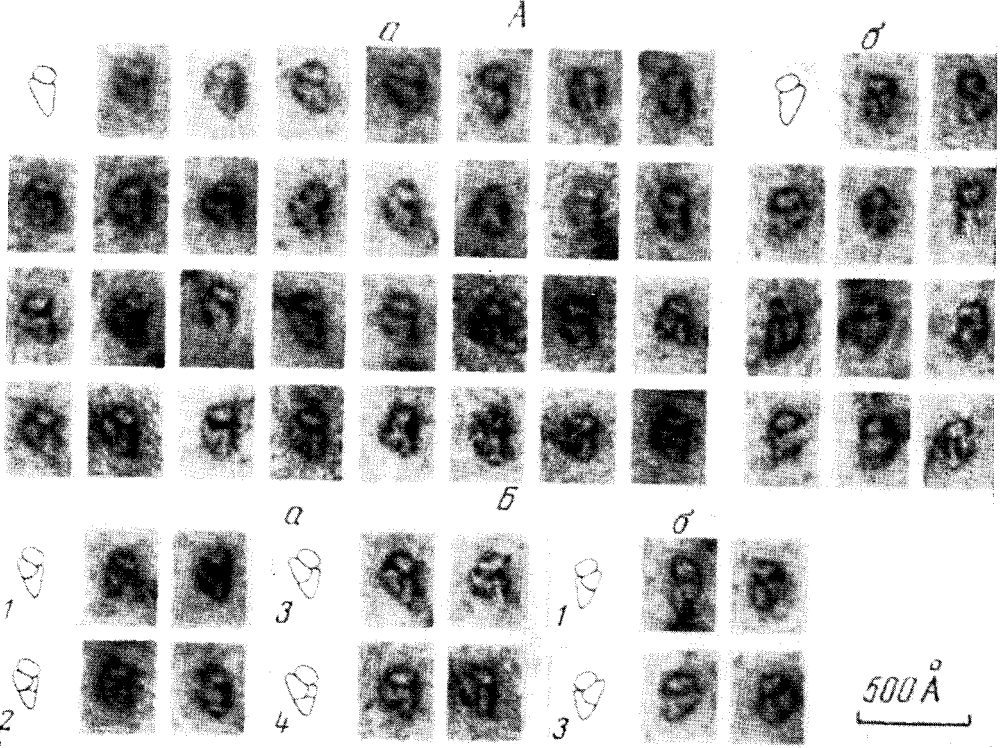


Рис. 1

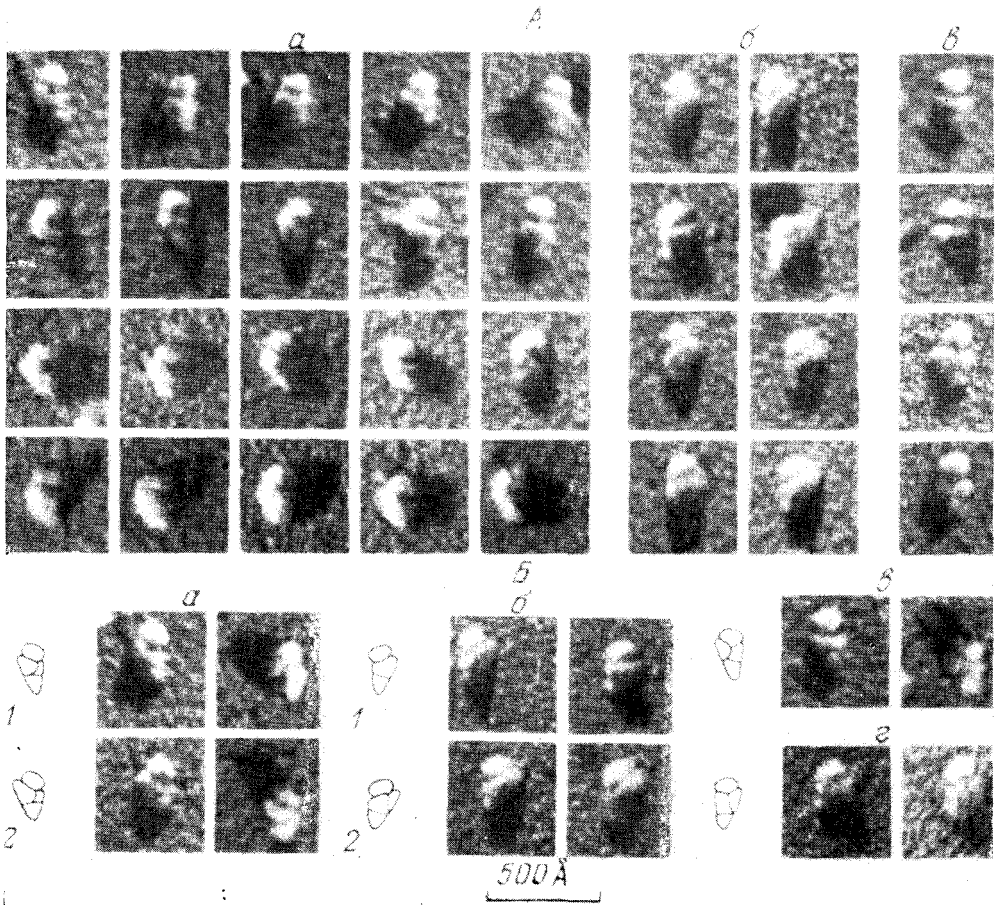


Рис. 2

всегда на теле субчастицы хорошо просматривается узкая плотная линия контрастера, расположенная наклонно к продольной оси. Иногда видна еще одна, менее четкая, линия, перпендикулярная к продольной оси, так что тело субчастицы оказывается подразделенным на три части. Длина частиц 185–205 Å; ширина — от 100 Å («узкие частицы», рис. 1 А; В, а) до 130 Å («широкие» частицы, рис. 1 А, а, з, 4; В, б, з), что можно объяснить различием ориентаций частиц относительно подложки.

2. Высушенные из замороженного состояния в вакууме и оттененные вольфрамом 30 S субчастицы. Основные типы изображений аналогичны описанным; «левые» и «правые» частицы встречаются в таком же количественном соотношении (рис. 2 А). Оттенение, выявляющее только рельеф наружной стороны частиц, позволяет установить различие морфологии противоположных сторон, если оно существует. Действительно, энантиоморфные формы боковых проекций субчастиц не полностью эквивалентны. На узких «левых» частицах тело подразделяется, как и в случае негативно контрастированных частиц, на три части (рис. 2В, а, 1). На «правых» наблюдается только одна поперечная линия на теле субчастицы (рис. 2В, б, 1). Вид спереди (рис. 2А, в; В, в) и

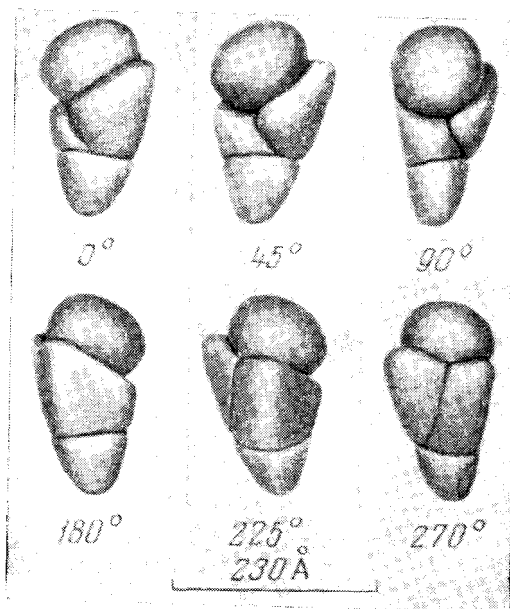


Рис. 3. Морфологическая модель 30 S субчастицы. Масштабная метка соответствует размеру субчастиц, высушенных из замороженного состояния в вакууме

вид сзади (рис. 2В, г) также различны и легко распознаваемы. Видно, что и в этой проекции тело субчастицы имеет треугольное очертание, а взаимное расположение головки и тела таково, что одна из боковых сторон субчастицы является почти плоской, а противоположная — выпуклой. Это может быть причиной наблюдаемого численного преимущества одной из энантиоморфных форм изображений субчастиц в боковой проекции. На изображениях, представленных на рис. 2А, в, очень четко видно подразделение субчастиц на четыре части. Длина частиц, с учетом поправки на толщину слоя металла, 220–240 Å; ширина варьирует от 120 до 160 Å.

Описанные детали морфологии 30 S субчастиц отражены в модели, представленной на рис. 3. При построении модели учитывалось, что в наших условиях съемки и получения фотоотпечатков микрофотографии дают изображения субчастиц в зеркальном отражении.

Институт белка
Академии наук СССР
Пушино-на-Оке

Получено
9 IX 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ H. E. Huxley, G. Zubay, J. Mol. Biol., v. 2, 10 (1960). ² V. I. Bruskor, N. A. Kiselev, J. Mol. Biol., v. 37, 367 (1968). ³ M. Lubin, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A., v. 61, 1451 (1968). ⁴ F. Amelunxen, Cytobiologie, v. 3, 111 (1971). ⁵ E. Shelton, E. L. Kuff, J. Mol. Biol., v. 22, 23 (1966). ⁶ Y. Nonomura, G. Blobel, D. Sabatini, J. Mol. Biol., v. 60, 303 (1971). ⁷ M. R. Wabl, H. G. Doberer et al., Cytobiologie, v. 1, 111 (1973). ⁸ В. Д. Васильев, Восьмая Всесоюз. конфер. по электронной микроскопии. Тез. докл. т. 3, М., 1971, стр. 10. ⁹ V. D. Vasiliev, FEBS Letters, v. 14, 203 (1974). ¹⁰ Н. Ф. Правдюк, В. М. Голынов, Properties of Reactor Materials and the Effects of Radiation Damage. Proc. Intern. Conf., London, 1961, p. 160. ¹¹ Н. А. Киселев, В. Я. Стельмащук и др., Молек. биол., т. 7, 609 (1973).