

Н. П. ЮРИНА, В. И. ЧУДИНА, Л. К. ОСНИЦКАЯ, М. С. ОДИНЦОВА,
академик А. И. ОПАРИН

**БЕЛКИ РИБОСОМ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ
CHROMATIUM VINOSUM**

Структура и функция рибосом и их компонентов наиболее детально исследованы у прокариотических организмов. Белки рибосом изучены в основном на рибосомах *Escherichia coli* ⁽¹⁾, ее мутантах ⁽²⁾ и некоторых других представителей семейства *Enterobacteriaceae* ⁽³⁾. Белки рибосом других видов бактерий практически не изучены. Известны электрофоретические данные, свидетельствующие о гетерогенности состава рибосом фотосинтезирующих бактерий *Chromatium vinosum*, *Rhodopseudomonas gelatinosa* ⁽⁴⁾, *Rps. palustris* ⁽⁵⁾. Более детальное исследование белков рибосом фотосинтезирующих бактерий представляет большой интерес в связи с вопросами эволюции фотосинтезирующих организмов, поскольку фотосинтезирующие бактерии являются наиболее примитивными из ныне живущих фотосинтезирующих форм. Для разделения белков рибосом фотосинтезирующих бактерий в вышеуказанных работах использовали метод одномерного электрофореза. При этом в препаратах белков мономеров рибосом удалось обнаружить 30—32 белковых зоны ^(4, 5). Широко применяемый в настоящее время метод двумерного электрофореза рибосомальных белков, при котором белки делятся в 1-м направлении по заряду, а во 2-м преимущественно по молекулярному весу, обладает значительно более высокой разрешающей способностью и позволяет судить о числе индивидуальных белков в рибосоме. Этот метод был применен в настоящей работе для изучения белков рибосом фотосинтезирующих бактерий *Chromatium vinosum*.

Рибосомы выделяли из 4-дневной культуры (стационарная фаза роста) в среде: 0,01 *M* фосфатный буфер, pH 7,5—7,8, 0,01 *M* ацетат Mg, 4 *mM* 2-меркаптоэтанол. Клетки разрушали в ультразвуковом дезинтеграторе MSE 500 Вт или в ступке с кварцевым песком. Гомогенат центрифугировали при 40 000 *g* в течение 30 мин. Осадок отбрасывали, а к надосадочной жидкости добавляли неионный детергент трипон X-100 до конечной концентрации 0,5—2,0%. Рибосомы осаждали центрифугированием в течение 90 мин. при 38 000 об/мин (ротатор № 40, ультрацентрифуга VAC-60). Осадок рибосом суспендировали в исходном буфере. Суспензию центрифугировали при низкой скорости для удаления агрегатов рибосом и надосадочную жидкость наслаивали на 1 *M* раствор сахарозы, приготовленный на том же буфере. Пробирки центрифугировали 90 мин. при 58 000 об/мин (ротатор № 60, ультрацентрифуга VAC-60; 3 мл 1 *M* раствора сахарозы в 0,01 *M* фосфатном буфере, pH 7,5—7,8, содержащем 0,01 *M* Mg²⁺, и 7 мл опытного раствора). В некоторых опытах рибосомы осаждали центрифугированием в течение 2 час. 30 мин. при 39 000 об/мин в роторе № 40 ультрацентрифуги VAC-60. В этом случае в центрифужные пробирки наслаивали 5 мл раствора сахарозы и 28 мл опытного раствора. Белки рибосом отделяли 3 *M* раствором LiCl в присутствии 5 *M* мочевины ⁽⁶⁾. Осадок РНК удаляли центрифугированием. Надосадочную жидкость диализовали против 1*N* уксусной кислоты и высушивали лиофильно. Высушенные препараты белков растворяли в электродном буфере трис — ЭДТА — борная кислота ⁽⁷⁾, со-

держащем 8 М мочевины, 10% сахарозу и 5 мМ 2-меркаптоэтанол, рН 8,6. Растворы электродных буферов и компонентов геля для первого и второго направлений готовили по Кальтшмидту и Витману (⁷). Электрофорез в 1-м направлении проводили в стеклянных трубочках размером 100×6 мм. Электрофорез во 2-м направлении проводили в приборе, описанном Велфлом (⁸) и несколько модифицированном нами (⁹). При электрофорезе в первом направлении на каждую колонку геля наносили 2–4 мг рибосомального белка в объеме 0,1–0,4 мл. Были изучены три препарата белков рибосом, каждый в 2–3 повторностях.

На рис. 1 представлена суммарная схема двумерной электрофореграммы белков рибосом *Chromatium vinosum*. В рибосомах *Chromatium* обнаружено в среднем 56 белков (25 пятен были интенсивно и 31 менее интенсивно или слабо окрашены). Группа «кислых» при рН 8,6 белков (с левой стороны пластины) содержала 16 белков. К катоду двигалось 40 белков.

По общему числу белков рибосомы изученной фотосинтезирующей бактерии сходны с рибосомами *E. coli*, в которых обнаружено 55 белков (⁴). Однако по числу одинаково заряженных белков рибосомы *Chromatium* отличаются от рибосом *E. coli*. В рибосомах *Chromatium* больше белков,двигающихся при рН 8,6 к аноду, чем в рибосомах *E. coli* (16 и 12 белков соответственно). Это согласуется с ранее установленным нами фактом (⁴) о том, что величины отношений основных аминокислот к кислым значительно различаются у фотосинтезирующих бактерий и у *E. coli* (отношение лизин+гистидин+аргинин/глутаминовая кислота+аспарагиновая кислота у фотосинтезирующих бактерий составляет 0,41–0,67, а у *E. coli* 0,99). В единственной работе, посвященной электрофоретическому изучению белков рибосом другого вида фотосинтезирующих бактерий — *Rps. palustris* (⁵), методом одномерного электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата был обнаружен в рибосомах 51 белок (28 белков в большой и 23 белка в малой субъединице). Таким образом, число белков в рибосомах другого представителя фотосинтезирующих бактерий близко к числу белков в рибосомах *Chromatium vinosum* и в других изученных до настоящего времени рибосомах бактериального происхождения. Небольшие различия в числе белков в рибосомах *Rps. palustris* и *Chromatium vinosum*, возможно, объясняются методическими причинами или видовыми различиями.

Таким образом, полученные нами данные наряду с данными, опубликованными в литературе (^{1–3}), свидетельствуют о том, что в процессе эволюции прокариотов не имели места существенные изменения структуры рибосом. Размеры рибосом, рибосомальных субъединиц и компонентов рРНК, так же как относительное содержание РНК и белка, сходны у большинства прокариотов. Данные, полученные при помощи двумерного электрофореза рибосомальных белков, свидетельствуют о том, что и число белков в рибосомах прокариотов остается постоянным в процессе эволюции.

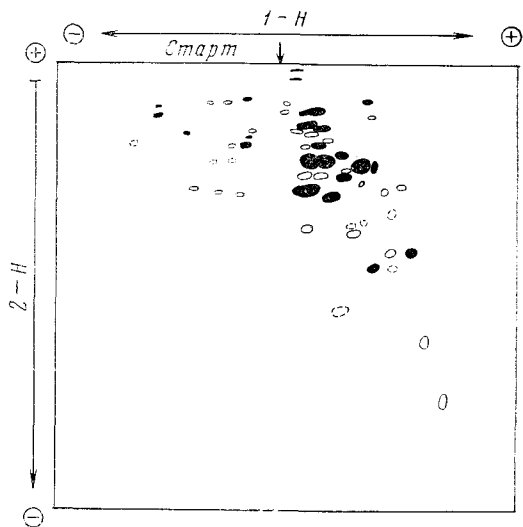


Рис. 1. Схема разделения белков рибосом *Chromatium vinosum* при двумерном электрофорезе в полиакриламидном геле, составленная из нескольких опытов

В связи с тем, что белки рибосом прокариотов, по-видимому, консервативны и эволюционно стабильны, изучение электрофоретической подвижности рибосомальных белков у этих организмов может быть использовано для целей систематики.

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

Поступило
20 VIII 1975

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ R. A. Garrett, H. G. Wittmann, Adv. in Protein Chem., v. 27, 278 (1973). ² R. Hensenbank, C. Guthrie et al., Mol. Gen. Genet., v. 127, 1 (1973). ³ M. Geisser, G. W. Tischendorf et al., ibid., v. 127, 111 (1973). ⁴ Н. П. Юрина, В. П. Чудина и др., ДАН, т. 206, 503 (1972). ⁵ Y. M. Bhatnagar, C. S. Stachow, J. Bacteriol., v. 109, 1319 (1972). ⁶ М. С. Одинова, Н. П. Юрина, Биохимия, т. 34, 667 (1969). ⁷ E. Kaltschmidt, H. G. Wittmann, Anal. Biochem., v. 36, 401 (1970). ⁸ H. Welfle, Acta biol. med. germ., v. 27, 547 (1971). ⁹ Н. П. Юрина, М. С. Одинова, ДАН, т. 218, 1478 (1974).