

Б. К. Іскаков, К. І. Мадин

## ВИЯВЛЕННЯ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА 45S РИБОНУКЛЕОПРОТЕЇДНИХ ЧАСТОК ЗАРОДКІВ ПШЕНИЦІ

*У субрибосомній фракції цитоплазматичного екстракту зародків пшениці виявлено відносно гомогенні (45S) рибонуклеопротеїдні (РНП) частки, які містять значну кількість РНК, що швидко мітяться. Величина плавучої щільності 45S РНП-часток у градієнті концентрації CsCl складає 1,50 г/см<sup>3</sup>, отже вони не є вільними цитоплазматичними інформосомами. У склад часток входять: 17S рРНК, гетерогенна (6—16S) РНК, яка швидко мітється і має високу матричну активність, та декілька низькомолекулярних РНК, з яких найбільш представлена РНК (5,3S) довжиною у 135 нуклеотидів. Аналіз білків 45S часток двовимірним електрофорезом виявив дві групи поліпептидів. Першу групу представлено типовими структурними білками рибосом (M<sub>r</sub> 10 000—50 000). До другої групи можна віднести високомолекулярні поліпептиди (40 000—120 000), серед яких, можливо, присутні поліпептиди факторів ініціації трансляції. Висунуто припущення, що 45S РНП-частки є нативним преініціаторним трансляційним комплексом [мРНК·40S·eIF·Met-tRNA<sub>i</sub>·GTP], який може накопичуватися in vivo як інтермедіат ініціації трансляції.*

**Вступ.** У цитоплазмі еукаріотичних клітин мРНК знаходиться у складі як полірибосомних, так і позаполірибосомних рибонуклеопротеїдних (мРНП) часток. Ці частки було названо «інформосоми» як переносники структурної інформації [1]. Цитоплазматичні позаполірибосомні (вільні) інформосоми мають універсальне поширення у еукаріотичних клітинах і являють собою клас часток, які відрізняються від рибосом та їх субодиниць за коефіцієнтами седиментації та плавучої щільності у CsCl [2, 3]. Вільні інформосоми мають низку характерних загальних властивостей, головною з яких є та, що їх коефіцієнт седиментації залежить від такого мРНК, що їх утворює, і перевищує його у 2—2,5 раза. При цьому плавуча щільність інформосом у CsCl складає від 1,36 до 1,48 г/см<sup>3</sup>, причому щільність головного компонента завжди дорівнює 1,40 г/см<sup>3</sup> незалежно від коефіцієнту седиментації [4].

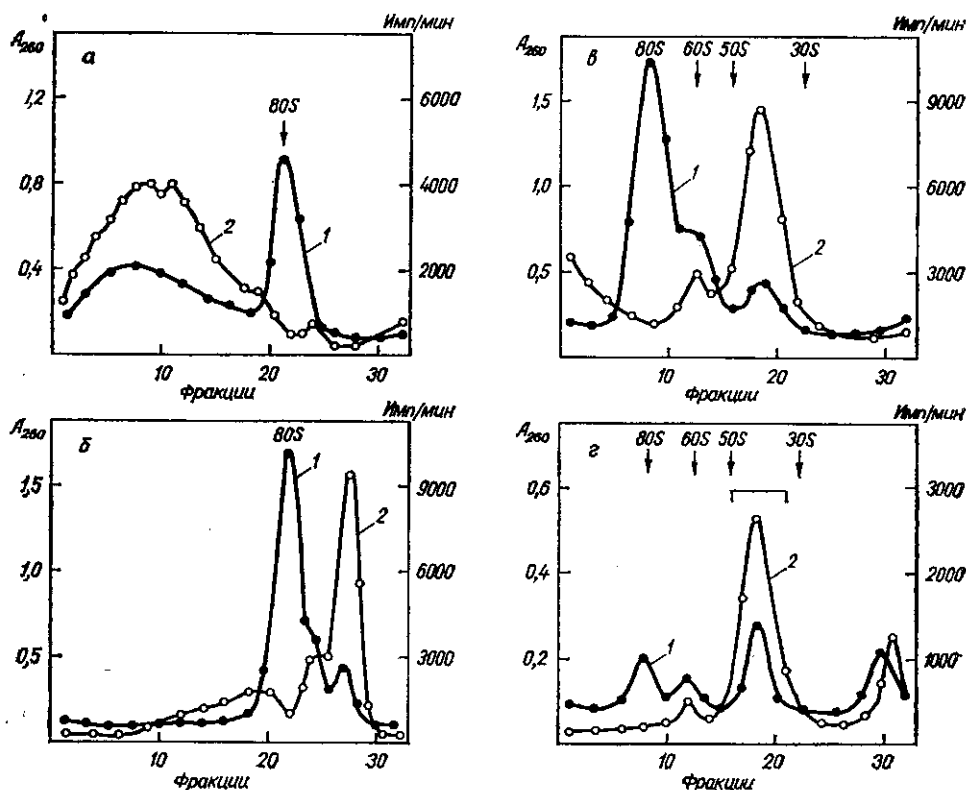
Разом з тим у цитоплазмі ряду клітин тварин виявлено відносно гомогенні РНП-частки з коефіцієнтом седиментації 40—50S, які містять РНК, що швидко мітяться радіоактивними попередниками [4—9]. Їх позначають як 45S РНП-частки [4], або, інколи, як нативні 40S (рибосомні) субчастки [10]. Як правило, у складі цих часток виявляється істотна кількість новосинтезованої швидкоміченої РНК, котру часто ототожнюють з мРНК. Ця обставина спричинила до появи багаточисельних експериментальних праць та дискусій, присвячених встановленню природи 45S РНП-часток [4—12]. Проте, узагальнюючи результати цих досліджень, не можна зробити однозначного висновку щодо природи 45S РНП-часток клітин тварин і питання до цих пір залишається відкритим.

У цій роботі представлено дані про вивчення локалізації новосинтезованої швидкоміченої РНК у клітинах вищих рослин. Виявлені нами у цитоплазмі зародків пшениці субрибосомні РНП-частки за своїми фізико-хімічними характеристиками і за складом аналогічні 45S часткам клітин тварин. Обговорюється питання про природу 45S РНП-часток зародків пшениці.

**Матеріали і методи.** Зародки пшениці (сорт Казахстанська 4) відокремлювали від ендосперму за методикою Джонстона та Стерна [13]. Пророщування зародків, інкубацію з [<sup>3</sup>H]уридином та отримання безмітохондріального цитоплазматичного екстракту (S23) провадили, як описано раніш [14]. Час пророщування зародків складав 12 год, час інкубації з радіоактивним попередником — 30 хв.

Виділення субклітинних фракцій. Безмітохондріальний цитоплазматичний екстракт (S23) обробляли тритоном X-100

(20 хв у кінцевій концентрації 0,5 %), нашарували на 1 М сахарозу (4 мл екстракту на 1 мл сахарози), яку готували на буфері для гомогенізації (0,02 М триетаноламін-НСІ, рН 7,6, 0,25 М сахароза, 0,1 М КСІ, 0,003 М MgCl<sub>2</sub>, 0,005 М 2-меркаптоетанол), та центрифугували при 105 000 g на протязі 60 хв у роторі SW-55. Перший осад (P1) позначений як полірибосомна фракція. Надосадову рідину нашарували



Мал. 1. Седиментаційний аналіз новосинтезованої РНК, яка швидко мігнється [<sup>3</sup>H]уридином і міститься у полірибосомній (а), рибосомній (б, в) та субрибосомній (г) фракціях цитоплазми зародків пшениці: 1 — A<sub>260</sub>; 2 — радіоактивність. Умови центрифугування: ротор SW-41, 105 000 g, 3°C, 2 год; 10—50 % сахарозний градієнт — для а і б; 3 год, 5—20 % сахарозний градієнт — для в і г

на 0,5 М сахарозу і центрифугували у тому ж режимі на протязі 3 год. Другий осад (P2) позначено як рибосомну фракцію. Надосадову рідину центрифугували ще раз у попередньому режимі на протязі 5 год. Кінцевий осад (P3) позначено як субрибосомну фракцію, а надосадову рідину (S100) — як безрибосомний цитоплазматичний екстракт або цитозоль. Отримані осадки суспендували у стандартному буфері (буфер для гомогенізації без сахарози) і центрифугували при 15 000 g для видалення агрегатів. Освітлену таким чином суспензію після виміру в ній УФ-поглинання за 260 нм та кислотоосаджуваної радіоактивності, подавали седиментаційному та щільнісному аналізам.

Седиментаційний аналіз. У залежності від розмірів молекул, які аналізують, використовували різні (5—20 та 10—50 %) градієнти концентрації сахарози. Тип ротору і режими центрифугування наведено у підписах до малюнків.

Щільнісний аналіз проводили у преформованому градієнті щільності CsCl (1,3—1,7 г/см<sup>3</sup>), як описано раніш [14]. У фракціях градієнтів визначали УФ-поглинання за 260 нм, кислотоосаджувану радіоактивність та кількість білка.

Виділення та аналіз РНК. РНК виділяли фенольним методом, як описано раніш [15], і аналізували у градієнті (10—30 %)

концентрації сахарози, а також електрофорезом у градієнтному (2—15 %) поліакриламідному гелі (ПААГ) з 7 М сечовиною [16].

Електрофорез білків у 12,5 % ПААГ з 0,1 % DS-Na здійснювали за методом Леммлі [17].

Двовимірний електрофорез білків у ПААГ з ізоелектрофокусуванням у присутності сечовини у першому напрямі та електрофорезом у присутності DS-Na — у другому здійснювали за методом О'Фаррела [18] з невеликими модифікаціями [15].

Матричну активність РНК оцінювали за її здатністю стимулювати включення  $L$ - $^{35}\text{S}$  метіоніну (питома радіоактивність 9 ПБк/моль, виробництво «Радіопрепарат» ІЯФ АН Узбекистану) у кислотоосаджувані поліпептиди під час трансляції у безклітинній системі зародків пшениці, як наведено раніш [19].

**Результати і обговорення.** На мал. 1 наведено результати седиментаційного аналізу новосинтезованої швидкоміченої РНК, яка міститься у полірибосомній (P1), рибосомній (P2) та субрибосомній (P3) фракціях клітин зародків пшениці. У полірибосомній фракції (мал. 1, а) міститься значна кількість 80S монорибосом, але практично вся радіоактивна РНК седиментує швидше, ніж 80S, можливо, у складі полірибосом.

При аналізі рибосомної фракції (P2) у 10—50 % градієнті концентрації сахарози (мал. 1, б) за УФ-поглинанням спостерігаються два компоненти — головний (80S), який відповідає монорибосомам і мінорний (45S), що відповідає нативним 40S рибосомним субчасткам (40SC4). Невелике плече на правому схилі піку монорибосом відповідає 60S рибосомним субчасткам (60SC4). Частина РНК, що швидко мітиться, розподіляється гетерогенно у передрибосомній зоні градієнту і, можливо, знаходиться у складі легких полірибосом, які не осіли у полірибосомну фракцію (P1). Більша частина новосинтезованої РНК розподіляється у пострібосомній зоні сахарозного градієнту у вигляді двох відносно гомогенних компонентів — головного (45S) та мінорного (60S). Рибосоми і, як наслідок, рибосомна РНК практично не містять радіоактивної мітки, у той же час структури з коефіцієнтом седиментації біля 45S мають найбільшу питому радіоактивність. Для того щоб підвищити розділювальну здатність у пострібосомній зоні, матеріал рибосомної фракції (P2) аналізували у пологому (5—20 %) градієнті концентрації сахарози (мал. 1, в). З цього аналізу виразно видно, що новосинтезована РНК у пострібосомній зоні градієнту седиментує переважно у складі часток з коефіцієнтом седиментації біля 45S.

На мал. 1, г, наведено результат седиментаційного аналізу субрибосомної фракції (P3). Матеріал, який поглинає у УФ-області, відзеркалює розподіл рибосом, рибосомних часток, розчинюваних білків та транспортної РНК. Новосинтезована високомолекулярна РНК, як і у випадку рибосомної фракції, виявляється головним чином у складі 45S РНП-часток. Лише незначна її частина знаходиться у складі 60SC4.

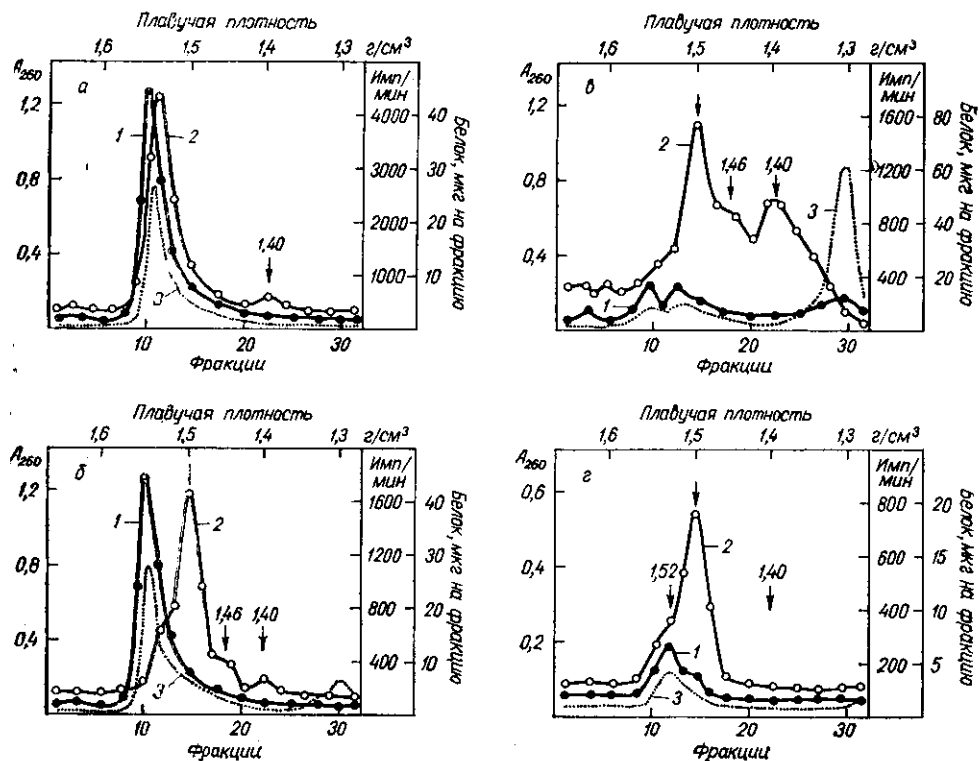
Таким чином, у цитоплазмі клітин зародків пшениці, які проростають, присутні відносно гомогенні 45S РНП-частки, що містять значну кількість (біля 20 %) новосинтезованої РНК, яка швидко мітиться. Природно виникає питання про походження цих часток.

Оскільки щільніший аналіз РНП-часток дає додаткову інформацію для міркування про їх природу, матеріал полірибосомної (P1), рибосомної (P2) і субрибосомної (P3) фракцій аналізували у градієнті щільності CsCl (мал. 2). Перед усім слід нагадати, що у вищих рослин плавуча щільність у CsCl для 80S монорибосом складає 1,54—1,55 г/см<sup>3</sup>; 60SC4 — 1,56—1,57 г/см<sup>3</sup>; 40SC4 — 1,52—1,53 г/см<sup>3</sup>; полірибосом — 1,51—1,53 г/см<sup>3</sup>; інформосом — 1,40—1,44 г/см<sup>3</sup> [20, 21].

З мал. 2, а, видно, що практично уся новосинтезована РНК полірибосомної фракції розподіляється у зоні з плавучою щільністю 1,50—1,54 г/см<sup>3</sup>, характерною для полірибосом, хоча присутній і мінорний

компонент із щільністю  $1,40 \text{ г/см}^3$ , характерною для інформосом зародків пшениці. Розподіл білка за градієнтом щільності цілком співпадає з розподілом УФ-поглинаючого матеріалу, що свідчить про його локалізацію у складі РНП-часток. Вільний білок (плавуча щільність  $1,30\text{—}1,35 \text{ г/см}^3$ ) відсутній.

У рибосомній фракції (мал. 2, б) УФ-поглинаючий матеріал представлений головним чином рибосомами (плавуча щільність  $1,54\text{—}1,55 \text{ г/см}^3$ ). Радіоактивний матеріал розподіляється у градієнті CsCl



Мал. 2. Щільнісний аналіз у градієнті CsCl матеріалу полірибосомної (а), рибосомної (б), субрибосомної (в) фракцій і 45S фракції сахарозного градієнту (г), зібраної, як наведено на мал. 1, г: 1 —  $A_{260}$ ; 2 — радіоактивність; 3 — розподіл білка. Умови центрифугування: ротор SW-65, 105 000 g, 3 °C на протязі 20 год

досить гомогенно з максимумом у зоні з плавучою щільністю  $1,50 \text{ г/см}^3$ . Виявляються також два мінорних компоненти з щільностями  $1,46$  та  $1,40 \text{ г/см}^3$ . Розподіл білка за градієнтом в основному співпадає з розподілом УФ-поглинаючого матеріалу. Проте наявність білка у зоні з щільністю  $1,3\text{—}1,32 \text{ г/см}^3$  свідчить про те, що у препараті рибосомної фракції міститься певна (біля 10% від сумарного білка) кількість вільних білків.

У субрибосомній фракції (мал. 2, в) УФ-поглинаючий матеріал представлений двома компонентами з плавучими щільностями  $1,55$  та  $1,52 \text{ г/см}^3$ . Перший компонент відповідає, мабуть, монорибосомам, які не розділилися, та 60SC4, другий — 40SC4. Радіоактивний матеріал розподіляється у градієнті CsCl аналогічно такому у рибосомній фракції, тобто є головний компонент з щільністю  $1,50 \text{ г/см}^3$  і два мінорних, але досить виразних, із щільностями  $1,46$  та  $1,40 \text{ г/см}^3$ . Компонент із щільністю  $1,40 \text{ г/см}^3$  представлений, мабуть, вільними цитоплазматичними інформосомами. Два інших компоненти з щільностями  $1,50$  та  $1,46 \text{ г/см}^3$  раніше вже спостерігалися у цитоплазматичних екстрактах зародків пшениці, що проростають [22], і було висунуто припущення, що вони відповідають комплексам інформосом з 40SC4 або монорибосомою, проте природа цих компонентів далі не з'ясувалася. Аналіз

вмісту білка у фракціях градієнту (див. мал. 2, в) свідчить про те, що препарат субрибосомної фракції містить велику кількість (біля 90 % сумарного білка) вільних білків, які розподіляються у широкій зоні з щільностями 1,30—1,35 г/см<sup>3</sup>.

Співставляючи результати седиментаційного (див. мал. 1) та щільнісного (див. мал. 2) аналізів рибосомної та субрибосомної фракцій, можна зробити висновок, що головний радіоактивний компонент із щільністю 1,50 г/см<sup>3</sup> на мал. 2 відповідає 45S часткам на мал. 1, або, інакше кажучи, 45S частки мають плавучу щільність 1,50 г/см<sup>3</sup>. Для того, щоб у цьому перекоонатися, був проведений щільнісний аналіз 45S фракції, яку виділяли з сахарозного градієнту, як наведено на мал. 1, г. На мал. 2, г, наведено результат цього аналізу. За УФ-поглинанням виявляється головний компонент з максимумом у зоні з щільністю 1,52 г/см<sup>3</sup>, характерною для 40SCЧ. У цій зоні міститься біля 20 % радіоактивного матеріалу, який може бути новосинтезованою 17S рРНК, яка знаходиться у складі новостворених 40SCЧ. На правому схилі УФ-піку виявляється невелике плече з щільністю 1,50 г/см<sup>3</sup>, на яке припадає біля 70 % радіоактивного матеріалу, що був взятий до аналізу. Мабуть, у 45S фракції сахарозного градієнту знаходяться щонайменше два типи РНП-часток: 1 — 40SCЧ (включаючи новостворені), які присутні у великій кількості, але містять менше радіоактивної РНК; 2 — саме 45S частки, які присутні у невеликій кількості, але містять РНК з найбільшою питомою радіоактивністю. Вільні інформосоми (1,40—1,44 г/см<sup>3</sup>) у препараті не виявляються.

Певно, що якби усі мічені 45S частки були новоствореними 40SCЧ, то їх плавуча щільність у CsCl повинна була складати 1,52 г/см<sup>3</sup>. У випадку, коли б частки були комплексами вільної (не пов'язаної з білком) мРНК та 40SCЧ, то плавуча щільність таких комплексів повинна була бути більша за таку 40SCЧ (тобто більша, ніж 1,52 г/см<sup>3</sup>). Нарешті, якщо ці частки є вільними інформосомами, то величина їх плавучої щільності повинна бути 1,40 г/см<sup>3</sup>. Величина плавучої щільності 45S часток, яка дорівнює 1,50 г/см<sup>3</sup>, займає проміжне становище між щільністю 40SCЧ (1,52 г/см<sup>3</sup>) та вільних інформосом (1,40 г/см<sup>3</sup>). Можна припустити, що 45S РНП-частки зародків пшениці становлять комплекси 40SCЧ з вільними інформосомами.

Подальше вивчення 45S часток провадили у напрямі аналізу РНК та білків, які входять до їх складу.

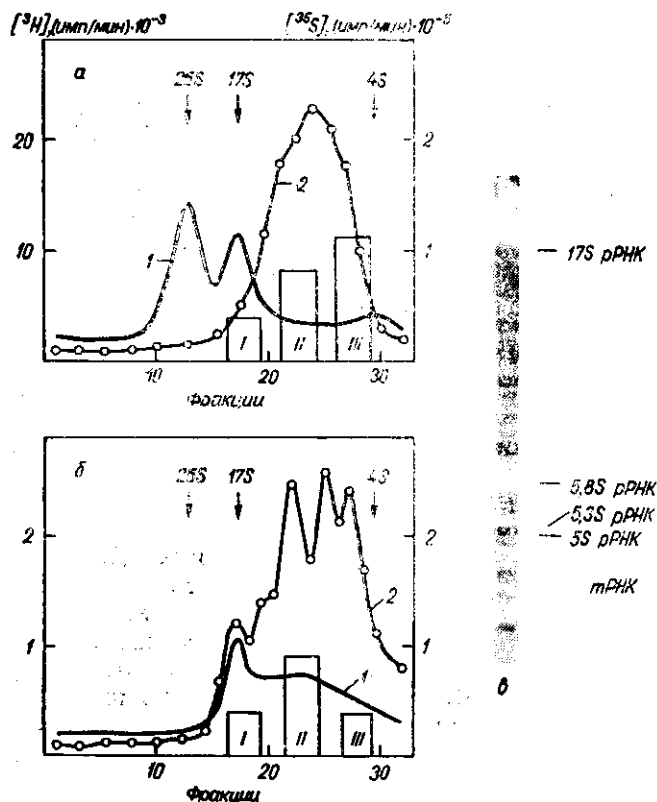
Для з'ясування природи 45S РНП-часток важливе значення має вивчення природи новосинтезованої РНК. З цією метою аналізу піддавали РНК, які входять до складу полірибосом та 45S часток, оскільки саме у цих структурах знаходиться практично уся новосинтезована РНК (див. мал. 1). На мал. 3, а, наведено седиментаційний розподіл РНК, виділеної з полірибосом, з якого видно, що рибосомні РНК не містять радіоактивної мітки, а уся новосинтезована РНК, що швидко мітиться, розподілена гетерогенно у інтервалі 6—16S з максимумом біля 12S. Такий розподіл є характерним для мРНК.

Аналіз РНК 45S часток у градієнті сахарози (мал. 3, б) показав, що у препараті не міститься 25S рРНК, а є присутніми 17S рРНК, гетерогенна за розміром РНК (6—16S) і невелика кількість низькомолекулярних РНК (4—6S). Біля 20 % радіоактивності припадає на новосинтезовану 17S рРНК, проте більша частина РНК, яка швидко мітиться, розподіляється гетерогенно у інтервалі 6—16S, що є характерним для мРНК.

Іншим критерієм матричної природи РНК є її здатність спрямовувати синтез білка *in vitro*. Для виміру матричної активності з сахарозних градієнтів, у яких аналізували РНК полірибосом (див. мал. 3, а) та РНК 45S часток (мал. 3, б), виділили три зони: I — 15—18S, II — 10—15S, III — 6—10S і РНК, котрі в них містяться, транслювали у безклітинній системі зародків пшениці. Результати, наведені на мал. 3, свідчать про те, що новосинтезована РНК, яка міститься в обох типах РНП-структур, має високу матричну активність і у випадку РНК 45S

часток максимум цієї активності припадає на зону 10—15S. Очевидно, що ототожнювання новосинтезованої РНК з мРНК справедливо лише за коротких періодів інкубації зародків пшениці з радіоактивним попередником (до 30 хв). За більш довгої інкубації радіоактивна мітка починає активно включатися до рибосомних, транспортних та інших видів РНК.

Аналіз РНК 45S часток електрофорезом у 2—15 % градієнтному ПААГ (мал. 3, в) підтвердив результати седиментаційного аналізу та

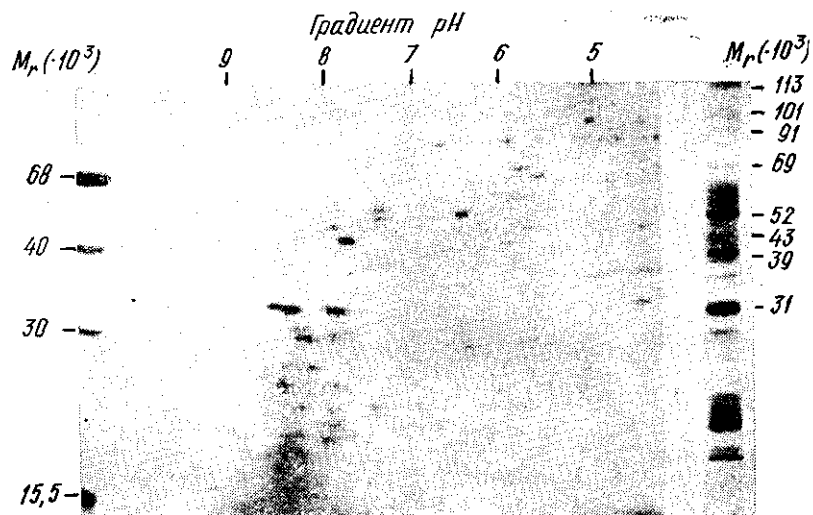


Мал. 3. Аналіз РНК, виділених з полірибосом (а) та з 45S фракції сахарозного градієнту (б, в), зібраної, як наведено на мал. 1, 2: —  $A_{260}$ ; 2 — радіоактивність. Трансляційну активність РНК, які містяться у різних зонах сахарозних градієнтів: I — 15—18S; II — 10—15S; III — 6—10S, визначали, як описано у розділі «Матеріали і методи». Умови центрифугування: ротор SW-50. 1, 105 000 g, 16 °C, 6 год; 10—30 % сахарозний градієнт — для а і б; в — електрофорез РНК 45S фракції у 2—15 % градієнтному ПААГ з 7 М сечовиною.

виявив у низькомолекулярній зоні характерний набір РНК. Крім високомолекулярних у препараті міститься невелика кількість тРНК, а також ряд дискретних низькомолекулярних РНК, з котрих найбільш представлена РНК (5,3S) довжиною біля 135 нуклеотидів.

Задля аналізу білків, які входять до складу 45S часток, використовували матеріал 45S фракції, виділеної з сахарозного градієнту, як наведено на мал. 1, г. Як контроль чистоти цього матеріалу використовували дані його щільнісного аналізу у градієнті CsCl (див. мал. 2, г). Як видно, препарат не містить вільних білків (плавуча щільність 1,30—1,32 г/см<sup>3</sup>) і представлений, мабуть, сумішшю малих рибосомних субчасток та 45S часток. Оскільки нам не вдалося далі розділити матеріал на ці складові, ми можемо навести лише сумарний поліпептидний склад 45S фракції. Білки 45S фракції аналізували електрофорезом у ПААГ з DS-Na та двовимірним електрофорезом (мал. 4). З наведених даних випливає, що більша частина поліпептидів представлена типовими структурними білками рибосом з  $M_r$  від 10 000 до 50 000, розподіленими у лужній зоні градієнту рН. Разом з тим у препараті присутні

і поліпептиди, які складають характерну групу, відмінну від рибосомних білків. До цієї групи можна віднести високомолекулярні поліпептиди ( $M_r$  40 000—120 000), які розподіляються у слабкоокислій зоні градієнту рН і присутні у невеликих кількостях. З багаточисельних поліпептидів цієї групи звертає на себе увагу поліпептид з  $M_r$  52 000, який має ізоелектричну точку біля 6,5 і присутній у значній кількості. Аналогічний пептид виявляється й у складі полірибосомних інформосом зародків пшениці [14, 15], тому можна припустити, що у складі 45S час-



Мал. 4. Електрофорез у ПААГ білків, які містять у 45S фракції, зібраній, як наведено на мал. 1, 2

ток цей поліпептид також пов'язаний з мРНК. Цілком імовірно, що до другої групи входять поліпептиди інформосомних білків і факторів ініціації трансляції.

Таким чином, у субрибосомній фракції цитоплазматичного скстракту зародків пшениці виявлено відносно гомогенні 45S РНП-частки, які містять значну кількість новосинтезованої РНК, що швидко мітиться. Аналіз у градієнті CsCl показав наявність у 45S фракції щонайменше двох типів РНП-часток з плавучими щільностями 1,50 і 1,52 г/см<sup>3</sup> та відсутність вільних інформосом (щільність 1,40 г/см<sup>3</sup>). Певно, обидва типи РНП-часток містять 40SC4, тому що у їх складі знаходиться 17S рРНК, частина якої є радіоактивно міченою. Проте більша частина новосинтезованої РНК, що швидко мітиться, має матричну природу і знаходиться у складі РНП-часток із щільністю 1,50 г/см<sup>3</sup> (власне 45S частки). Крім згаданих високомолекулярних РНК, у 45S фракції виявлено невелику кількість тРНК, а також ряд низькомолекулярних РНК з розмірами у інтервалі 120—200 нуклеотидів. Структура і функції найбільш представленої з них, позначеної як 5,3S РНК (довжина біля 135 нуклеотидів), у теперішній час досліджуються. Нарешті, поліпептиди, які містяться у 45S фракції, можна розділити на дві групи: 1 — рибосомні (рІ 8—9;  $M_r$  10 000—50 000); 2 — нерибосомні (рІ 4,5—7;  $M_r$  40 000—120 000). До другої групи можуть входити поліпептиди інформосомних білків, а також факторів ініціації трансляції.

Узагальнюючи експериментальні дані, наведені у цій праці, можна припустити, що 45S РНП-частки зародків пшениці є комплексами 40SC4 з вільними інформосомами, котрі функціонально тотожні преініціаторним трансляційним комплексам, які містять 40SC4, мРНК, білкові фактори ініціації трансляції, GTP та ініціаторну метіоніл-тРНК.

Що стосується 45S РНП-часток клітин тварин, то спочатку було дві точки зору на їх природу. Згідно з першою, усю мічену РНК цих

часток представлено 18S рибосомною РНК і, певно, самі 45S частки є новосинтезованими попередниками 40SC4, котрі з'являються у цитоплазмі швидше, ніж 60SC4 [5], і чомусь містять набагато більше білка порівняно із стиглими 40SC4 [9, 11]. Згідно з другою точкою зору, мічена РНК у складі 45S часток становить РНК матричного типу, а 45S частки є комплексом мРНК [6—8] або мРП [12] з 40SC4 і розглядаються як проміжна стадія переходу мРНК до полірибосом. Цікавіше було винунуто третє припущення, яке полягає в тому, що 45S РП-частки можуть бути специфічними для клітин, котрі швидко діляться, інформосомами, які містять, певно, гомогенну за молекулярною масою мРНК, або мРНК у зоні 45S може виявитися домішкою за рахунок накладання гетерогенно седиментуючих інформосом [4, 9].

Властивості 45S часток тваринних клітин можна підсумувати наступним чином. Частки мають досить гомогенний розподіл у градієнті концентрації сахарози в області 40—50S, не дивлячись на те, що в їх складі виявляється деяка кількість гетерогенної РНК, подібної до мРНК. У ретикулоцитів кроля у складі 45S часток було виявлено гомогенну за розміром (9S) глобінову мРНК [10, 23]. У градієнті щільності CsCl частки розподіляються у вигляді декількох (від двох до семи) дискретних компонентів з плавучими щільностями у інтервалі від 1,38 до 1,53 г/см<sup>3</sup>, причому переважають за масою компоненти з щільностями 1,46—1,51 г/см<sup>3</sup> [9, 24, 25]. Рибонуклеїновий компонент 45S часток представлено 18S рРНК, мРНК та низькомолекулярною РНК (4—6S). Наявність 18S рРНК показана в усіх роботах, присвячених вивченню 45S часток. Присутність мРНК у складі часток також показана багаточисельними дослідниками, причому мРНК була ідентифікована за седиментаційним розподілом у градієнті концентрації сахарози [6], електрофоретичним розподілом у агарозному гелі [26], за ефективністю гібридизації з гомологічною ДНК [7], за здатністю спрямовувати синтез поліпептидів у безклітинній системі трансляції [6, 23]. Присутність у складі 45S часток низькомолекулярних РНК було доведено на ретикулоцитах кроля [23], проте природу їх не було встановлено. Разом з тим є дані про те, що до складу 45S часток входить ініціаторна Мет-тРНК [24, 27]. Аналіз білкового компоненту свідчить на користь того, що у склад 45S часток входять структурні білки 40SC4 [23, 26]. Крім цих білків, виявляються додаткові високомолекулярні поліпептиди, багато з яких відповідають поліпептидам ініціаторних трансляційних факторів eIF-2 та eIF-3 [23]. Решта з нерибосомних поліпептидів не ідентифікована, але, цілком імовірно, може відповідати іншим ініціаторним факторам і (або) білкам мРП [23, 28].

Порівнюючи властивості та компонентний склад 45S РП-часток клітин тварин і рослин можна зробити висновок, що вони дуже схожі між собою.

Автори висловлюють подяку Л. П. Овчинникову та співробітникам лабораторії регуляції біосинтезу білка Інституту білка РАН за обговорення та критичні зауваження до роботи.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Spirin A. S. Non-ribosomal ribonucleoprotein particles (informosomes) of animal cells // The mechanisms of protein synthesis and its regulation.— New York, 1972.— Vol. 27.— P. 515—536.
2. Preobrazhensky A. A., Spirin A. S. Informosomes and their protein components: The present state of knowledge // Progr. Nucl. Acids Res. and Mol. Biol.— 1978.— 21.— P. 1—37.
3. Spirin A. S., Ajtkhozhin M. A. Informosomes and polyribosome associated proteins in eukaryotes // Trends Biochem. Sci.— 1985.— 10, N 4.— P. 162—165.
4. Ovchinnikov L. P., Spirin A. S. Ribonucleoprotein particles in cytoplasmic extracts of animal cells // Naturwissenschaften.— 1970.— 57, N 11.— P. 514—521.
5. Entrance of newly formed messenger RNA and ribosomes into HeLa cell cytoplasm / M. Girard, H. Latham, S. Penman, J. E. Darnell // J. Mol. Biol.— 1985.— 11, N 2.— P. 187—201.



6. Henshaw E. C., Revel M., Hiatt H. H. A cytoplasmic particle bearing messenger ribonucleic acid in rat liver // *Ibid.*— 14, N 1.— P. 241—256.
7. McConkey E. H., Hopkins J. W. Subribosomal particles and the transport of messenger RNA in HeLa cells // *Ibid.*— P. 257—270.
8. Joklik W. K., Becker Y. Studies on the genesis of polyribosomes. II. The association of nascent messenger RNA with the 40S subribosomal particle // *Ibid.*— 13, N 2.— P. 511—520.
9. Пострибосомные РНК-содержащие частицы цитоплазмы животных клеток по данным анализа в градиенте CsCl / Л. П. Овчинников, Н. В. Белицина, А. Ц. Аванесов, А. С. Спириин // Докл. АН СССР.— 1969.— 186, № 5.— С. 1202—1205.
10. Zehavi-Willner T., Danon D. Complexes of messenger RNA and 40S subunit in rabbit reticulocytes // *Eur. J. Biochem.*— 1973.— 33, N 2.— P. 258—264.
11. Perry R. P., Kelley D. E. Messenger RNA-protein complexes and newly synthesized ribosomal subunits: analysis of free particles and components of polyribosomes // *J. Mol. Biol.*— 1968.— 35, N 1.— P. 37—59.
12. Huang A. S., Baltimore D. Initiation of polyribosome formation in poliovirus-infected HeLa cells // *Ibid.*— 1970.— 47, N 3.— P. 275—291.
13. Johnston F. B., Stern H. Mass isolation of viable wheat embryo // *Nature.*— 1957.— 179.— P. 160—161.
14. Искаков Б. К., Айтхожин М. А. Белки информосом, связанных с полирибосомами, из прорастающих зародышей пшеницы // Молекуляр. биология.— 1979.— 13, № 5.— С. 1124—1129.
15. Искаков Б. К., Айтхожин М. А. Выделение белков информосом и анализ их с помощью двухмерного электрофореза // Методы молекуляр. биологии, биохимии и биотехнологии растений.— Алма-Ата : Наука, 1988.— 168 с.
16. Электроэлюция нуклеиновых кислот из полиакриламидных гелей и определение нуклеотидной последовательности РНК / К. И. Мадин, Н. Ж. Каримов, Б. К. Искаков, Н. О. Накисбеков // Там же.— С. 158.
17. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature.*— 1970.— 227, N 5259.— P. 680—685.
18. O'Farrell P. H. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins // *J. Biol. Chem.*— 1975.— 250, N 10.— P. 4007—4021.
19. The synthesis of high-molecular-weight proteins in the wheat germ translation system / M. D. Morch, G. Drugeon, W. Zagorski, A. L. Haenni // *Meth. Enzymol.*— 1986.— 118.— P. 154—164.
20. Ajtkhozhin M. A., Beklemishev A. B., Nazarova L. M. Dissociation and density characteristics of ribosomes of plant cells // *FEBS Lett.*— 1972.— 21, N 1.— P. 42—44.
21. Ajtkhozhin M. A., Akhanov A. U., Doschanov Kh. I. Informosomes of germinating wheat embryos // *Ibid.*— 1973.— 31, N 1.— P. 104—106.
22. Ajtkhozhin M. A., Akhanov A. U. Release of mRNP particles of informosome type from polyribosomes of higher plant embryos // *Ibid.*— 1974.— 41, N 2.— P. 275—279.
23. Buhl W.-Ju., Sarre T. F., Hilse K. Characterization of a native mRNA containing preinitiation complex from rabbit reticulocytes: RNA and protein constituents // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*— 1980.— 93, N 3.— P. 979—987.
24. On the heterogeneity of native ribosomal subunits in Ehrlich-ascites-tumor cells cultured *in vitro* / W. J. van Venrooij, A. P. M. Janssen, J. H. Hoeymakers, B. M. de Man // *Eur. J. Biochem.*— 1976.— 64, N 2.— P. 429—435.
25. Vangdal E., Elkhom Th. S. Analysis of the population of the native 40S ribosomal subunits in mouse plasmacytoma cells grown in suspension culture // *Ibid.*— 1980.— 107, N 1.— P. 15—23.
26. Nikolaev N., Welfle H., Hadjiolov A. A. Characterization of a free cytoplasmic ribonucleoprotein particle carrying messenger-like ribonucleic acid // *FEBS Lett.*— 1972.— 27, N 2.— P. 235—239.
27. Smith K. E., Richards A. C., Arnstein H. R. V. The binding of Met-tRNA<sub>f</sub> to isolated 40S ribosomal subunits and the formation of Met-tRNA<sub>f</sub>-80S ribosome initiation complexes // *Eur. J. Biochem.*— 1976.— 62, N 2.— P. 243—245.
28. Sundkvist J. C., Staehelin Th. Structure and function of free 40S ribosome subunits: characterization of initiation factors // *J. Mol. Biol.*— 1975.— 99, N 3.— P. 401—418.

Ин-т молекуляр. биології і біохімії ім. М. А. Айтхожина  
АН Казахстану, Алма-Ата

Одержано 22.07.91