

КРАТКИЕ НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 581.174+581.19:547.96

Э. Г. САРУХАНЫАН, М. И. МОЛЧАНОВ, Э. Н. БЕЗИНГЕР

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ  
СВОЙСТВ ЛИПОПРОТЕИДОВ ВНУТРЕННИХ МЕМБРАН  
ПРОПЛАСТИД И ХЛОРОПЛАСТОВ КУКУРУЗЫ

Изучение дифференциации пропластид и формирования хлоропластов важно для понимания взаимоотношений между структурой и функцией этих органелл растительной клетки. В процессе превращения пропластид в сформированный хлоропласт происходят глубокие морфологические изменения, ведущие к перестройке «проламеллярного тела» пропластид в ламеллярную систему хлоропласта гранального типа строения. Основным структурным компонентом внутренних мембран пропластид и хлоропластов являются липопротеиды. Целью настоящей работы было изучение некоторых физико-химических свойств липопротеидов в процессе развития пластид.

В опытах использовали 6-дневные проростки кукурузы сорта Элита, выращиваемые в условиях оранжереи одновременно в темноте и на свете. Часть проростков, выращенных в темноте, перед выделением пластид освещали в течение 24 и 48 час. Растения освещали лампами дневного света ЛДС-30. Интенсивность света составляла 7500 люкс.

Для выделения пластид проростки смешивали с равным по весу количеством промытого кварцевого песка и растирали в фарфоровой ступе, в среде, содержащей 0,4 М сахарозу и 1% сывороточный альбумин. Гомогенат отжимали через полотно. Пластиды осаждали центрифугированием в интервале 300—3500×g в течение 15 мин, вновь суспендировали в той же среде и осаждали при 3500×g. Далее пластиды очищали в ступенчатом градиенте 0,5—1,0—1,5—2,0 М сахарозы. Центрифугировали при 20 000×g 15 мин. Использовали пластиды, переходящие в слой 1,5 М сахарозы. Липопротеиды извлекали из пластид 78% этиловым спиртом (рН 3), осаждали из спиртового раствора при рН ~6 и очищали повторным переосаждением. Все операции по выделению пластид и извлечению из них липопротеидов проводили при 2—4°C [1].

В препаратах липопротеидов, выделенных из пропластид и хлоропластов проростков кукурузы, определяли содержание азота по микрометоду Кьельдаля и содержание липидов — весовым методом. После отделения липидов проводили сравнительное исследование белковой

части липопротеидов из пропластид и хлоропластов в аналитической ультрацентрифуге Spinco, модель E, и электрофорезом в полиакриламидном геле.

Препараты липопротеидов, выделенных из пластид этиолированных и зеленых проростков кукурузы, имели близкое содержание азота, равное 12,3 и 12,5% на сухой вес препарата.

В аналитической ультрацентрифуге исследовали четыре препарата липопротеидов: из пропластид, из сформированных хлоропластов и из пластид проростков, выдержанных на свету в течение 24 и 48 час. Препараты липопротеидов для исследования в аналитической ультрацентрифуге готовили по следующей методике: липопротеиды, очищенные переосаждением, как описано выше, многократно промывали при центрифугировании дистиллированной водой и обрабатывали при 2—4°C ацетоном для удаления пигментов и главной массы липидов [2, 3]. Затем белок переводили в раствор 0,5% додецилсульфата натрия в 0,01 M  $K_2HPO_4$ , содержащий 0,1 M NaCl. Раствор доводили до pH 8,6 0,1 N KOH. Белки исследовали в аналитической ультрацентрифуге при температуре ротора 20°C. Концентрация белка в пробах составляла 1 мг/мл.

Все исследованные препараты липопротеидов давали один пик в ультрацентрифуге (рис. 1) и имели коэффициент седиментации 1,7 S, что согласуется с ранее полученными результатами в отношении липопротеидов из хлоропластов кукурузы [3].

При исследовании тех же препаратов липопротеидов электрофорезом в полиакриламидном геле в них было обнаружено по одному белковому компоненту (рис. 2). Исследованные белки растворяли в 0,5% додецилсульфате натрия. Количество белка в каждой пробе составляло 100 мкг. Электрофорез осуществляли при 0° в течение 45 мин в 0,05 молярном трис-глициновом буфере pH 8,5. Сила тока на трубку составляла 5 ма. Белки окрашивали кумасси.

Надо отметить, что обнаружение лишь одного компонента в препаратах липопротеидов из проростков кукурузы в этом и предыдущем исследованиях [3] представляет собой случай, который противоречит данным по содержанию главных белковых компонентов в ламеллярных структурах, выделенных рядом исследователей из хлоропластов шпината [4, 5] и нами из хлоропластов фасоли [3]. Является ли это следствием взаимодействия белковой части липопротеидов кукурузы с детергентом (что могло вызвать агрегацию белковых компонентов) или липопротеиды внутренних мембран пластид кукурузы отличаются от других исследованных растений тем, что имеют один главный белковый компонент, покажут дальнейшие исследования. Необходимо отметить, однако, что первое предположение нам представляется менее вероятным, доказательством тому служат опыты, в которых очищенные от пигментов и основной массы липидов препараты липопротеидов кукурузы после их растворения в 0,01 M NaCl с добавлением NaOH до pH 8,0 и без добавления детергента обнаруживали при исследовании в полиакриламидном геле в аналогичных условиях эксперимента один

белковый компонент. Возможно, иные условия проведения электрофореза могут дать отличный от настоящего опыта результат, однако в этой работе нас интересовало не количество компонентов, входящих в бел-

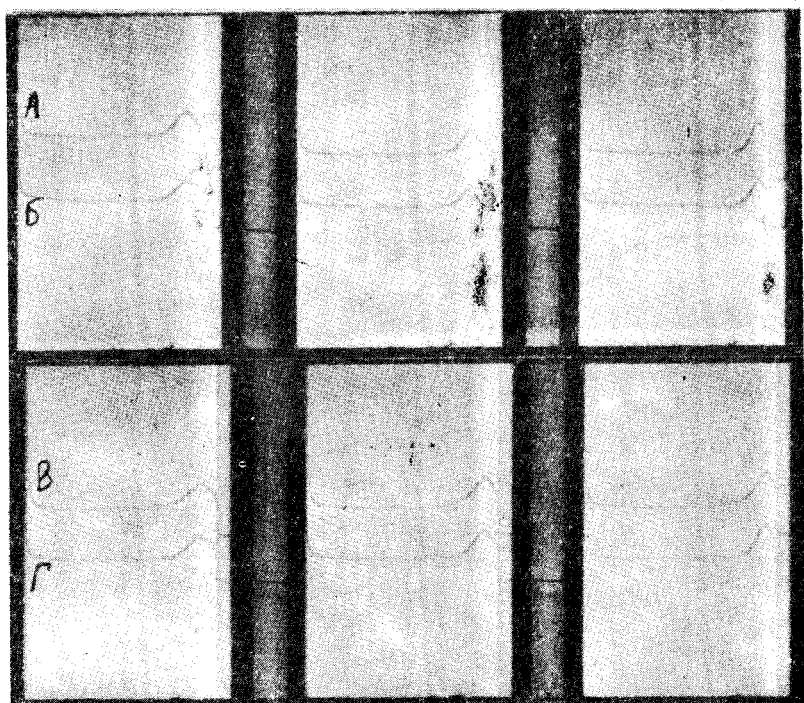


Рис. 1. Седиментограммы белковой части липопротеидов из пропластид и хлоропластов кукурузы. А — этиолированные проростки, Б — зеленые проростки, В — проростки освещались в течение 24 час. Г — проростки освещались в течение 48 час. Скорость центрифугирования — 56100 об/мин. Интервал съемки 8 мин.

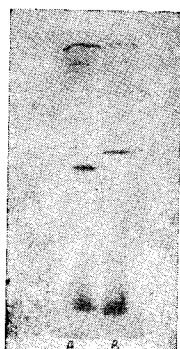


Рис. 2. Электрофореграммы белковой части липопротеидов из хлоропластов (А) и пропластид (Б) кукурузы.

ковую часть липопротеидов из пропластид и хлоропластов кукурузы, а сравнение их свойств в одинаковых условиях эксперимента.

Таким образом, липопротеиды из пропластид кукурузы по изучен-

ным физико-химическим свойствам не отличаются от липопротеидов хлоропластов, которые, как было уже показано, являются белками внутренних мембран хлоропластов — ламелл [3].

Институт агрохимических проблем  
и гидропоники АН АрмССР,  
Институт биохимии  
им. А. Н. Баха АН СССР

Поступило 3.XII 1969 г.

Է. Գ. ՍԱՐՈՒՆՅԱՆ, Մ. Ի. ՄՈՂԶՆՈՎ, Է. Ն. ԲԵԶԻՆԳԵՐ

**ԵԳԻՓՏԱՅՈՐՆԵՐ ՊՐՈՊԼԱՍՏԻՆԵՐԻ ԵՎ ՔԼՈՐՈՊԼԱՍՏՆԵՐԻ ՆԵՐՔԻՆ  
ՄԵՄԲՐԱՆՆԵՐԻ ԼԻՊՈՊՐՈՏԵԻՆԵՐԻ ՖԻԶԻԿԱ-ՔԻՄԻԱԿԱՆ  
ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՀԱՄԱՐԱՏԱԿԱՆ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ**

**Ա մ փ և փ ու մ**

Լիպոպրոտեինները հանդիսանում են պրոպլաստիդների և քլորոպլաստների ներքին մեմբրանների կառուցվածքային հիմնական բաղկացուցիչ մասը:

Հետազոտվել են լիպոպրոտեինների ֆիզիկա-քիմիական մի քանի հատկությունները (ազոտի, լիպոիդների, սպիտակուցների պարունակությունը, սեղիմենտացիայի գործակիցը) եգիպտացորենի կանաչող էտիոլացված և կանաչ սածիլների պլաստիդների զարգացման պրոցեսում:

Ցույց է տրվել, որ եգիպտացորենի պրոպլաստիդների լիպոպրոտեինները իրենց ֆիզիկա-քիմիական հատկություններով չեն տարբերվում քլորոպլաստների լիպոպրոտեիններից, որոնք քլորոպլաստների լամելների ներքին մեմբրանների սպիտակուցներն են:

**Л И Т Е Р А Т У Р А**

1. Безингер Э. Н., Молчанов М. И., Котовская А. П., Сисакян Н. М. ДАН СССР, **151**, 722, 1963.
2. Безингер Э. Н., Молчанов М. И., Сисакян Н. М. ДАН СССР, **159**, 446, 1964.
3. Молчанов М. И., Безингер Э. Н. ДАН СССР, **178**, 475, 1968.
4. Ogawa T., Opata F., Shipata K. Biochim. et biophys. Acta, **112**, 223, 1966.
5. Thornberg J. Ph., Gregory R. P. F. et al., Biochemistry, **6**, 391, 1967.