
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

GIOVANNI GIUDICE, VINCENZO MUTOLO

Specie-specificità delle proteine ribosomiali

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 42 (1967), n.4, p. 554–557.

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1967_8_42_4_554_0>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

Citologia. — *Specie-specificità delle proteine ribosomiali* (*). Nota di GIOVANNI GIUDICE e VINCENZO MUTOLO, presentata (**) dal Socio G. MONTALENTI.

SUMMARY. — An electrophoretic study of ribosomal proteins isolated from embryonic tissues demonstrates striking differences when ribosomal proteins from embryos of distant *phyla*, as sea urchins and chickens, are compared. Some differences are also evident between those of close *genera* as *Paracentrotus lividus* and *Sphaerechinus granularis*.

No differences were detected between the ribosomal proteins of different developmental stages of sea urchins or between different tissues of chick embryos.

È stato recentemente provato che l'RNA ribosomiale presenta delle differenze nelle differenti specie (Yankofsky et al., 1962; Aronson, 1963; Robinson et al., 1964). Nulla è però noto riguardo alla specificità di specie delle proteine ribosomiali. I risultati esposti nella presente Nota indicano chiaramente l'esistenza di differenze nel comportamento elettroforetico delle proteine ribosomiali tra embrioni di differenti « *phyla* » e perfino tra embrioni di differenti generi della stessa classe (Echinoidea).

MATERIALI E METODI.

Si sono preparati i ribosomi da embrioni di riccio di mare o da pelle e fegato di embrioni di pollo di 10 giorni.

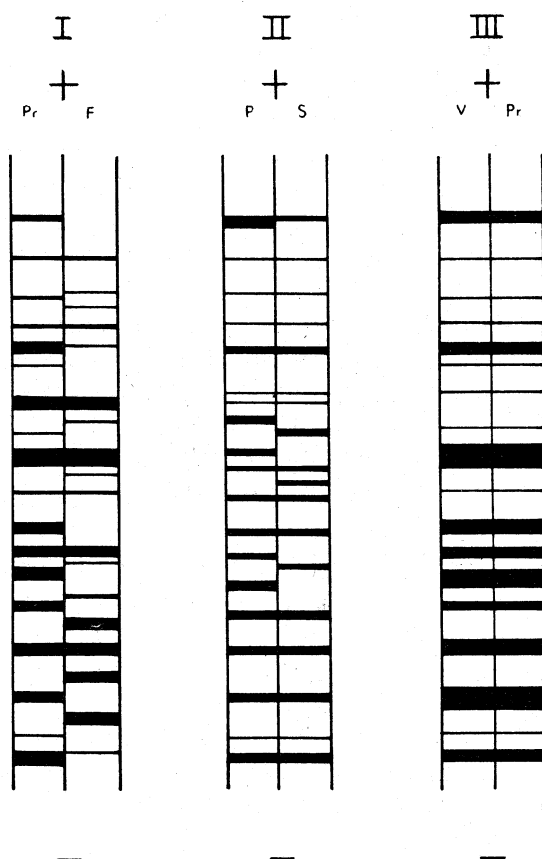
Il materiale è stato omogenato in saccarosio 0,3 M in tampone Tris 0,035 M pH 7,6 contenente KCl 0,025 M, acetato di magnesio 0,004 M e mercaptoetanolo 0,005 M. Il supernatante ottenuto dopo centrifugazione dell'omogenato a $15.000 \times g$ è stato centrifugato a $105.000 \times g$ per 90 minuti. Il sedimento è stato risospeso in desossicolato di sodio 1 % in tampone Tris 0,01 M pH 7,4 e stratificato su 1,5 cc. di saccarosio 0,6 M in tampone Tris. Si è quindi centrifugato a $105.000 \times g$ per 60 minuti. Il sedimento ribosomiale, così ottenuto, è stato trattato con 0,025 mg di ribonucleasi pancreatica per mg di RNA, a 37°C per 45 minuti. Le proteine ribosomiali, che precipitano dopo la digestione dell'RNA, si sono raccolte per centrifugazione e, dopo un lavaggio con tampone Tris, sono state disciolte in acido acetico 50 %. Si recupera in tal modo oltre il 90 % delle proteine contenute nei ribosomi sottoposti a trattamento con ribonucleasi, con un 9-13 % di contaminazione con RNA, come risulta dall'analisi delle proteine col metodo di Lowry et al. (1952), e dall'analisi dell'RNA col metodo dell'orcinolo.

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia Comparata della Università di Palermo e Unità di Embriologia Molecolare del Consiglio Nazionale delle Ricerche.

(**) Nella seduta dell'11 febbraio 1967.

RISULTATI E DISCUSSIONE.

Esperimenti preliminari di marcatura di embrioni di riccio di mare *in vivo* con aminoacidi radioattivi, in stadi in cui non vi è sintesi di nuovi ribosomi, hanno dimostrato che la quantità di isotopo che si ritrova associata alle proteine ribosomiali purificate è minima. Queste infatti raggiungono una attività specifica che è pari solo al 15 % di quella delle proteine totali. Ciò indica che le nostre preparazioni di proteine ribosomiali sono poco contaminate da altre proteine, almeno di nuova sintesi.



Elettroferogrammi (schematici) di: I) Proteine ribosomiali di embrioni di *Paracentrotus* allo stadio di prisma (Pr) e di fegato di embrioni di pollo (F). II) Proteine ribosomiali di embrioni allo stadio di 2 blastomeri di *Sphaerechinus granularis* (S) e *Paracentrotus Lividus* (P). III) Proteine ribosomiali di *Paracentrotus lividus* allo stadio di uovo vergine (V) e di prisma (Pr).

L'elettroforesi su colonnine di gel di poliacrilamide è stata condotta secondo la tecnica di REISFELD et al. (1965) con le seguenti modificazioni: si sono usati dei tubi di Perspex la cui parte inferiore era divisa in due da un setto longitudinale in modo da poter fare scorrere i due campioni da paragonare in un'unica colonnina di gel. Tutte le soluzioni, eccettuato il tampone a pH 4,5 delle vasche contenevano urea 8 M. La quantità di proteine usata per ogni scorrimento è stata di 0,4-0,5 mg. L'elettroforesi si sono condotte a temperatura ambiente per 9-10 h a 5 mA per tubo. Le colonnine di gel sono state colorate con «amido-black» e l'eccesso di colore è stato rimosso elettroforeticamente,

Nel diagramma I è paragonato il comportamento elettroforetico delle proteine ribosomiali di embrioni di riccio di mare con quello delle proteine ribosomiali di embrioni di pollo. Oltre metà delle bande elettroforetiche non coincidono. Si notano anche delle differenze quando si paragoni il comportamento elettroforetico delle proteine ribosomiali di embrioni di *Paracentrotus lividus* e di *Sphaerechinus granularis*. Come si vede dal diagramma II almeno sette bande elettroforetiche non coincidono.

Esperimenti nei quali si è paragonato il comportamento elettroforetico di proteine ribosomiali di embrioni di riccio a diverso stadio di sviluppo forniscono un'ulteriore prova che le differenze di specie qui descritte non possono essere attribuite a contaminazione delle nostre preparazioni di proteine ribosomiali con altre proteine cellulari.

Non si riscontra infatti alcuna differenza elettroforetica se si paragonano le proteine ribosomiali di stadi come l'uovo vergine o il prisma in cui ci si possono aspettare differenze nelle proteine citoplasmatiche.

Non si è neppure riusciti a mettere in evidenza differenze elettroforetiche tra le proteine di ribosomi di tessuti diversi, come il fegato e la pelle, anche se questi sono presumibilmente impegnati fondamentalmente nelle sintesi di proteine organospecifiche come la sieroalbumina e la cheratina, rispettivamente.

Se le differenze elettroforetiche tra le proteine ribosomiali di specie diversa fossero dovute esclusivamente alla contaminazione con altre proteine cellulari avremmo dovuto ottenere differenze elettroforetiche anche in questo ultimo caso.

Appare anche assai improbabile che le differenze riscontrate tra le diverse specie siano dovute al fatto che le nostre preparazioni contengano ancora un residuo di RNA.

In questo caso avremmo infatti dovuto trovare differenze in certo modo proporzionali al grado di contaminazione delle nostre preparazioni; il che non è stato. Inoltre, è stato dimostrato da Waller ed Harris (1961) che la contaminazione con RNA ha scarsa importanza nel comportamento elettroforetico delle proteine ribosomiali.

Questi autori infatti non hanno riscontrato alcuna differenza nella migrazione elettroforetica di proteine ribosomiali isolate o interamente legate al loro RNA in *Escherichia coli*. È possibile che l'RNA residuo venga staccato dalle proteine per effetto dell'urea (Spitnik-Elson, 1961), durante lo scorrimento elettroforetico.

In conclusione questi risultati dimostrano che le proteine ribosomiali di specie diversa hanno un comportamento elettroforetico diverso.

Con la stessa tecnica non si mettono in evidenza differenze tra tessuti diversi o tra stadi di sviluppo diversi di uno stesso embrione. Data l'importanza di quest'ultimo risultato si stanno conducendo ulteriori esperimenti a conferma di esso,

BIBLIOGRAFIA.

- A. I. ARONSON, « Biochim. Biophys. Acta », 72, 176 (1963).
O. H. LOWRY, N. J. ROSEBROUGH, L. A. FARR e R. J. RANDALL, « J. Biol. Chem. », 239, 2944 (1964).
B. A. REISFELD, U. J. LEWIS e D. E. WILLIAMS, « Nature », 195, 281 (1965).
W. S. ROBINSON, W. T. HSU, C. F. FOX e S. B. WEISS, « J. Biol. Chem. », 193, 265 (1952).
P. SPITNIK-ELSON, « Biochem. Biophys. Acta », 55, 741 (1962).
J. P. WALLER e J. I. HARRIS, « Proc. Natl. Acad. Sci. », U. S., 47, 18 (1961).
S. A. YANKOFSKY e S. SPIEGELMAN, « Proc. Natl. Acad. Sci. », U. S., 48, 1069 (1962).