



УДК 547.963.32.02+577.11

ИССЛЕДОВАНИЕ ПЛАЗМИД ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ
*HALOBACTERIUM HALOBIIUM*Патон Е. Б., Ходкова Е. М., Гурьева Н. М.,
Свердлов Е. Д.Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва

Исследованы плазмиды из штаммов *Halobacterium halobium* дикого типа, R₁, S₁, R₁M₁ и red-мутанта, не синтезирующего родопсин. Молекулярные веса плазмид, определенные электронно-микроскопически, по подвижности плазмид при электрофорезе в агарозных гелях и по сумме молекулярных весов рестриционных фрагментов составляют для этих плазмид соответственно 6·10⁷, 2·10⁷, 2·10⁷, 6,3·10⁷ и 5,7·10⁷. Проведен анализ продуктов расщепления этих плазмид эндонуклеазами рестрикции *EcoRI*, *SalI*, *HindIII*, *PstI*, *BamHI*. Обнаружено, что при расщеплении плазмид из *H. halobium* R₁, R₁M₁ и S₁ эндонуклеазой *HindIII* один из фрагментов имеет одинаковую подвижность для всех случаев. Этот фрагмент не обнаруживается при расщеплении плазмиды из мутанта, не синтезирующего родопсин.

Галофильные бактерии — один из видов животных организмов, приспособленных к существованию в экстремальных условиях. Исследование регуляции их жизнедеятельности и сопоставление ее с регуляцией жизнедеятельности организмов, приспособленных к существованию в «нормальных» условиях, может значительно расширить наши представления о молекулярных механизмах, лежащих в основе существования живых систем. Одна из первоочередных задач такого исследования — выяснение механизмов экспрессии генов. Возможно, наиболее простой моделью для этого является экспрессия генов, кодируемых внехромосомными элементами — плазмидами.

К постоянному времени описан ряд плазмид галофильных бактерий. Показано, в частности, что генами, локализованными на плазмидах, кодируются белки газовых вакуолей, наблюдаемых в *Halobacterium halobium* [1] и *H. salinarium* [2]. Одним из чрезвычайно интересно регулируемых белков [3] является бактериоопсин, содержащийся в мембранах ряда галофилов. Структура этого белка недавно установлена в нашем институте [4]. Имеются данные, что гены, кодирующие бактериоопсин, также содержатся в плазмидном материале (В. Гёбель, персональное сообщение и [4]).

В плане исследования структурно-функциональных взаимоотношений в бактериородопсине и механизма регуляции его биосинтеза нами было проведено исследование плазмид из различных штаммов *H. halobium* в надежде идентифицировать участки, связанные с биосинтезом бактериородопсина. Предварительные результаты этой работы были опубликованы ранее [5].

При исследовании различных штаммов *H. halobium* на содержание плазмидной ДНК после равновесного центрифугирования осветленного

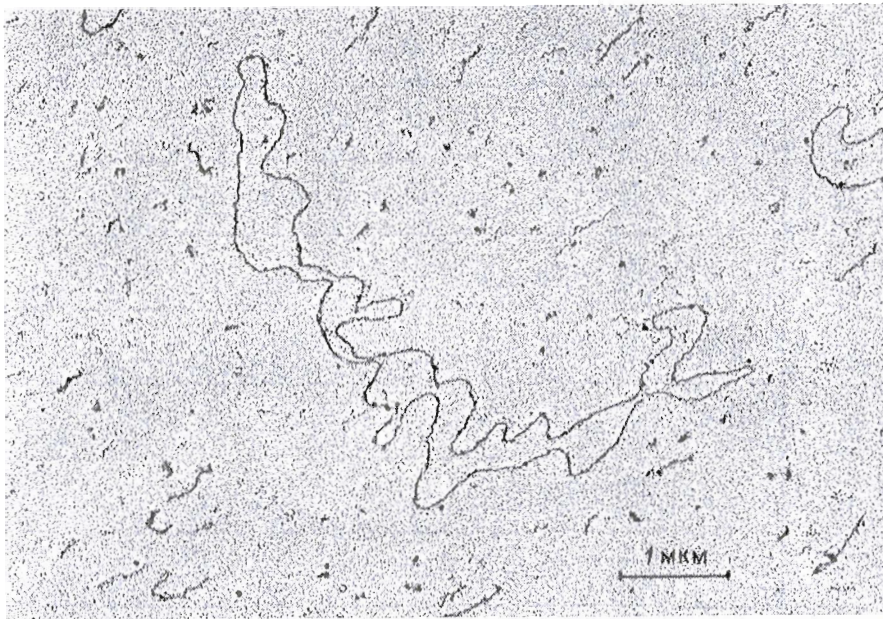


Рис. 1. Электронная микрофотография плазмиды из *H. halobium*, штамм R₁.

лизата в градиенте плотности CsCl во всех исследованных штаммах обнаруживалась полоса, соответствующая по плотности суперскрученной плазмидной ДНК [1]. Что эта ДНК действительно представляет собой плазмидный материал, было доказано также электропо-микроскопическим исследованием ДНК из штамма R₁, выделяемой из раствора CsCl. Электроинно-микроскопическая фотография соответствующей ДНК (рис. 1) свидетельствует, что это действительно циклическая ДНК, контурная длина которой составляет 11,0 мкм, что соответствует молекулярному весу $22 \cdot 10^6$ [6]. Таким образом, во всех случаях полосы с высокой плавучей плотностью, очевидно, представляют собой плазмиды (табл. 1).

Согласно табл. 1, плазмиды из штаммов *H. halobium* S₁ и R₁ значительно меньше плазмид из дикого штамма и мутантных штаммов red и R₁M₁. Плазмиды из штаммов дикого типа, R₁M₁ и штамма red, не синтезирующего бактериородопсин, близки по молекулярному весу.

Для более детальной характеристики все плазмиды подвергали анализу при помощи расщепления различными рестрикционными эндонуклеазами.

Таблица 1

Штамм <i>H. halobium</i>	Молекулярный вес плазмиды ($M \cdot 10^{-6}$)		
	по подвижности в 0,6% агарозном геле	по сумме мол. весов фрагмен- тов	определенный электронно- микроскопиче- ски
Дикий тип *	> 40	62	22
R ₁	< 40	21	
S ₁	< 40	22	
R ₁ M ₁	> 40	63	
red	> 40	57	

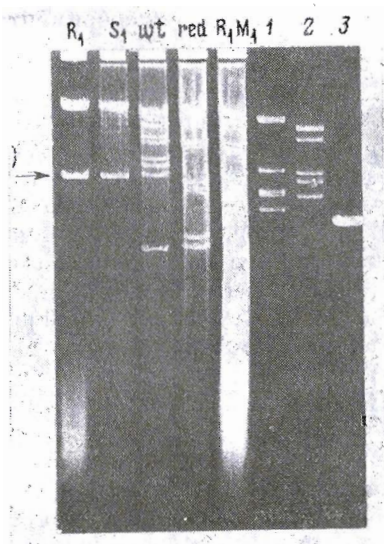
* В предварительном сообщении [5] для штамма *H. halobium* дикого типа были ошибочно приведены результаты, полученные для штамма S₁.

Сравнение результатов расщепления плазмид из дикого штамма *H. halobium* и мутантных штаммов *H. halobium*, R_1 , S_1 , R_1M_1 и red рестрикционными эндонуклеазами

Подчеркнуты фрагменты, имеющие одинаковую подвижность в штаммах, синтезирующих ропоцины, и не наблюдающиеся в *red*-мутанте. Приводится молекулярная масса фрагмента ($M \cdot 10^{-6}$)

Фрагмент	EcoRI				SalI				HindIII				PstII				BamHI						
	R ₁	S ₁	w.t.	red	R ₁ M ₁	R ₁	S ₁	w.t.	red	R ₁	S ₁	w.t.	red	R ₁	S ₁	w.t.	red	R ₁ M ₁	R ₁	S ₁	w.t.	red	
	A	5,3	5,5	4,1	4,1	4,1	4,1	4,1	11,6	11,6	18	18	18	18	5,8	5,8	17,3	17,3	7,0	7,0	15,6	15,6	15,6
B	2,5	2,5	6,5	6,5	3,1	3,1	3,1	4,3	4,3	4,4	4,4	11,6	11,6	3,9	3,9	7,4	7,4	5,5	5,5	13,5	13,5	13,5	13,5
C	2,3	2,3	5,6	5,6	2,1	2,1	2,1	4,1	4,1	7,8	7,8	7,0	7,0	3,7	3,7	6,4	6,4	5,2	5,2	7,8	7,8	11,0	9,0
D	2,2	2,2	5,1	5,1	1,4	1,4	1,4	3,6	3,6	7,0	7,0	6,2	6,2	1,9	1,9	5,8	5,8	2,5	2,5	7,0	7,0	7,2	7,8
E	2,1	2,1	4,5	4,8	1,0	1,0	1,2	3,2	4,1	5,5	5,5	3,9	3,9	1,5	1,5	5,1	5,1	2,4	2,4	5,5	5,5	6,7	5,2
F	1,5	1,5	4,0	4,3	0,8	0,8	1,0	2,8	3,8	5,0	5,0	2,3	2,3	1,0	1,2	3,9	3,9	2,2	2,2	5,2	5,2	6,4	5,0
G	1,1	1,1	2,9	3,0	0,8	0,8	0,8	2,6	3,1	4,4	4,4	2,0	2,0	0,9	1,0	3,7	3,7	2,2	2,2	4,7	4,7	5,5	3,6
H	1,0	1,0	2,7	2,6	2,6	2,6	2,6	2,3	3,0	2,0	2,0	2,0	2,0	0,9	0,9	3,5	3,5	2,2	2,2	3,7	3,7	5,2	2,9
I	0,9	0,9	2,5	2,3	2,5	2,5	2,5	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	0,9	0,9	2,0	2,0	2,2	2,2	2,5	2,5	3,0	2,5
J	0,8	0,8	2,3	2,1	2,3	2,3	2,3	1,4	1,8	1,4	1,4	1,4	1,4	0,9	0,9	1,4	1,4	2,2	2,2	2,3	2,3	2,7	2,3
K	0,5	0,5	2,1	1,9	2,2	2,2	2,2	1,3	1,4	1,3	1,4	1,4	1,4	0,9	0,9	1,4	1,4	2,2	2,2	2,1	2,1	2,6	2,1
L	0,4	0,4	1,8	1,4	1,9	1,9	1,9	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	0,9	0,9	1,4	1,4	2,2	2,2	2,1	2,1	2,2	2,2
M			1,6	1,1	1,7	1,7	1,7	1,0	0,8	1,0	0,8	0,8	0,8	0,9	0,9	3,5	3,5	2,2	2,2	3,7	3,7	5,2	2,9
N			1,2	1,0	1,6	1,6	1,6	0,93	0,7	0,93	0,7	0,7	0,7	0,9	0,9	2,0	2,0	2,2	2,2	2,5	2,5	3,0	2,5
O			1,0	0,9	1,4	1,4	1,4	0,81	0,6	0,81	0,6	0,6	0,6	0,9	0,9	1,4	1,4	2,2	2,2	2,3	2,3	2,7	2,3
P			0,9	0,74	1,2	1,2	1,2	0,77	0,5	0,77	0,5	0,5	0,5	0,9	0,9	1,4	1,4	2,2	2,2	2,1	2,1	2,6	2,1
Q			0,8	0,65	0,9	0,9	0,9	0,7	0,6	0,7	0,6	0,6	0,6	0,9	0,9	1,4	1,4	2,2	2,2	2,1	2,1	2,2	2,1
R			0,7	0,62	0,8	0,8	0,8	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,9	0,9	1,4	1,4	2,2	2,2	2,1	2,1	2,2	2,1
S			0,6	0,6	0,7	0,7	0,7	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,9	0,9	1,4	1,4	2,2	2,2	2,1	2,1	2,2	2,1

Рис. 2. Расщепление плазмид из различных штаммов *H. halobium* рестрикционной эндонуклеазой *Hind* III. Стрелкой указаны фрагменты с одинаковой подвижностью, наблюдаемые в штаммах, синтезирующих бактериородопсин, и отсутствующие в плазмиде *red*-мутанта. Справа приведены результаты контрольных расщеплений: 1 — ДНК фага λ эндонуклеазой рестрикции *Eco*RI; 2 — ДНК фага λ эндонуклеазой рестрикции *Bam*HI; 3 — плазмиды *pBR 322* эндонуклеазой рестрикции *Eco*RI



Как видно из данных рис. 2 и табл. 2, плазмиды из штаммов R_1 и S_1 близки по структуре, а плазмиды из штаммов дикого типа и мутантных штаммов *red* и R_1M_1 заметно отличаются друг от друга. Сопоставляя набор рестрикционных фрагментов плазмид из штаммов, синтезирующих бактериородопсин, и штамма *red*, не синтезирующего этот белок, можно попытаться идентифицировать фрагмент, содержащий ген родопсина.

Наиболее наглядная картина получается при сопоставлении подвижностей фрагментов, образующихся при гидролизе плазмид эндонуклеазами *Hind*III и *Bam*HI. Можно заметить, что в *Hind*III-гидролизате всех плазмид из штаммов, продуцирующих бактериородопсин, содержится фрагмент с одинаковой подвижностью, имеющий молекулярный вес $4,4 \cdot 10^6$. Плазмида из штамма *red* этого фрагмента не содержит.

Анализ вариантов нуклеотидной последовательности гена бактериородопсина, выводимых из последовательности белка на основании генетического кода (предполагается, что у *H. halobium* не происходит сплайсинга), показывает, что внутри этого гена не должно содержаться участков, расщепляемых эндонуклеазами *Hind*III и *Eco*RI. Следовательно, если ген бактериородопсина действительно содержится в обсуждаемом фрагменте с $M 4,4 \cdot 10^6$, можно полагать, что в нем заключена по крайней мере вся структурная часть этого гена.

Естественно, совпадение подвижностей рестриктных фрагментов не может служить достаточным показателем присутствия или отсутствия гена. Необходимо проанализировать, действительно ли ген находится на плазмиде, а также установить, что он локализован в данном фрагменте.

Мы попытались элиминировать плазмиду из штамма *H. halobium* дикого типа, используя приемы, эффективные в случае *E. coli*. Для этого бактерии выращивали на среде, содержащей акрифлавин, в концентрации 150 мкг/мл и следили за изменением окраски бактерий от пурпурной к красной. Нам не удалось заметить никаких изменений в фенотипе бактерий в процессе инкубации. Элиминировать плазмиды из галофильных бактерий невозможно [1, 7], однако причины этого ясны.

Таким образом, для окончательной локализации гена бактериородопсина нужны другие методы: либо прямой анализ последовательности, либо гибридизация с синтетическими зондами, последовательности которых можно вывести из последовательности белка. Работа в этих направлениях проводится в настоящее время.

Экспериментальная часть

В работе использовали штаммы *H. halobium* дикого типа [1], R₁, R₁M₁ [8], S₁, полученный от проф. В. Стокениуса (США), а также мутантный штамм ged, не синтезирующий бактериородопсин [9]. Все штаммы выращивали в среде, содержащей 4 М NaCl, 0,12 М Mg₂SO₄, 0,03 М KCl, 0,01 М Na₂-цитрат, 0,5% казамиповые кислоты, pH 7,0 [1].

Рестрикционные эндонуклеазы *EcoRI*, *SalI*, *HindIII* были выделены в нашей лаборатории. Рестрикционные эндонуклеазы *BamHI* и *PstI* предоставлены опытным производством Института биохимии и физиологии микроорганизмов АН СССР. Все продукты не содержали примесей неспецифических экзо- и эндонуклеаз. Реактивы, используемые в работе, имели квалификацию х.ч. или ч.д.а. и использовались без дополнительной очистки.

Плазмиды из различных штаммов выделяли по методике, описанной ранее [5].

Молекулярный вес плазмид определяли по их подвижности в 0,6–0,8% агарозном геле и по сумме молекулярных весов фрагментов, образующихся при обработке плазмид рестрикционными эндонуклеазами. Размеры фрагментов определяли, сопоставляя их подвижность в 0,8% агарозных гелях с подвижностью реперных фрагментов, получаемых при расщеплении ДНК бактериофага λ рестрикционными эндонуклеазами *EcoRI* и *BamHI* [10] и плазмиды pBR 322 рестрикционной эндонуклеазой *EcoRI* [11].

В случае плазмиды из штамма *H. halobium* R₁ молекулярный вес определяли также электронно-микроскопически по контурной длине релаксированного цикла*. Нуклеотидный состав этой плазмиды определяли по температуре плавления** суммы двух фрагментов, образующихся в результате расщепления ее эндонуклеазой *HindIII*. Содержание G·C-пар в плазмиде равно 57±1,5%.

Расщепление плазмид различными эндонуклеазами осуществляли в 10 мМ трис-НСl-буфере (pH 7,4–7,6), содержащем 10 мМ MgCl₂, 1 мМ дитиотреит, 60 мМ NaCl. Реакционные смеси содержали 1–2 мкг плазмидной ДНК.

Электрофорез проводили в агарозных пластинках размером 20×20××0,3 см в трис-ацетатном буфере, pH 7,9–8,2 (40 мМ трис, 20 мМ уксусная кислота, 2 мМ EDTA), в течение 14–16 ч при силе тока 25–30 мА. После электрофореза для локализации фрагментов гели окрашивали раствором бромистого этидия (5 мкг/мл) в течение 10–20 мин и фотографировали при УФ-освещении.

Авторы благодарны акад. Ю. А. Овчинникову за постоянное внимание и помощь в выполнении данной работы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Weidinger G., Klotz G., Goebel W. A large plasmid from *Halobacterium halobium* carrying genetic information for gas vacuole formation.— *Plasmid*, 1979, v. 2, № 3, p. 377–386.
2. Simon R. D. Halobacterium strain 5 contains a plasmid which is correlated with the presence of gas vacuoles.— *Nature*, 1978, v. 273, № 5660, p. 314–317.
3. Sumper M., Herrmann G. Biogenesis of purple membrane: regulation of bacteriorhodopsin synthesis.— *FEBS Lett.*, 1976, v. 69, №1, p. 149–152.
4. Ovchinnikov Yu. A., Abdulaev N. G., Feigina M. Yu., Kiselev A. V., Lobanov N. A. The structural basis the functioning of bacteriorhodopsin: an overview.— *FEBS Lett.*, 1979, v. 100, № 2, p. 219–224.

* Электронно-микроскопическое определение проводилось в лаборатории электронной микроскопии ИМБ АН СССР.

** Плавление проводилось М. А. Перельройзенем (ИНОХ СО АН СССР) с использованием микротехники, сконструированной в этом институте.

Рис. 2. Расщепление плазмид из различных штаммов *H. halobium* рестрикционной эндонуклеазой *Hind* III. Стрелкой указаны фрагменты с одинаковой подвижностью, наблюдаемые в штаммах, синтезирующих бактериородопсин, и отсутствующие в плазмиде *red*-мутанта. Справа приведены результаты контрольных расщеплений: 1 — ДНК фага λ эндонуклеазой рестрикции *Eco*RI; 2 — ДНК фага λ эндонуклеазой рестрикции *Bam*HI; 3 — плазмиды pBR 322 эндонуклеазой рестрикции *Eco*RI



Как видно из данных рис. 2 и табл. 2, плазмиды из штаммов R_1 и S_1 близки по структуре, а плазмиды из штаммов дикого типа и мутантных штаммов *red* и R_1M_1 заметно отличаются друг от друга. Сопоставляя набор рестрикционных фрагментов плазмид из штаммов, синтезирующих бактериородопсин, и штамма *red*, не синтезирующего этот белок, можно попытаться идентифицировать фрагмент, содержащий ген родопсина.

Наиболее наглядная картина получается при сопоставлении подвижностей фрагментов, образующихся при гидролизе плазмид эндонуклеазами *Hind*III и *Bam*HI. Можно заметить, что в *Hind*III-гидролизате всех плазмид из штаммов, продуцирующих бактериородопсин, содержится фрагмент с одинаковой подвижностью, имеющий молекулярный вес $4,4 \cdot 10^6$. Плазмида из штамма *red* этого фрагмента не содержит.

Анализ вариантов нуклеотидной последовательности гена бактериородопсина, выводимых из последовательности белка на основании генетического кода (предполагается, что у *H. halobium* не происходит сплайсинга), показывает, что внутри этого гена не должно содержаться участков, расщепляемых эндонуклеазами *Hind*III и *Eco*RI. Следовательно, если ген бактериородопсина действительно содержится в обсуждаемом фрагменте с $M 4,4 \cdot 10^6$, можно полагать, что в нем заключена по крайней мере вся структурная часть этого гена.

Естественно, совпадение подвижностей рестриктных фрагментов не может служить достаточным доказательством присутствия или отсутствия гена. Необходимо проанализировать, действительно ли ген находится на плазмиде, а также установить, что он локализован в данном фрагменте.

Мы попытались элиминировать плазмиду из штамма *H. halobium* дикого типа, используя приемы, эффективные в случае *E. coli*. Для этого бактерии выращивали на среде, содержащей акрифлавин, в концентрации 150 мкг/мл и следили за изменением окраски бактерий от пурпурной к красной. Нам не удалось заметить никаких изменений в фенотипе бактерий в процессе инкубации. Элиминировать плазмиды из галофильных бактерий невозможно [4, 7], однако причины этого неясны.

Таким образом, для окончательной локализации гена бактериородопсина нужны другие методы: либо прямой анализ последовательности, либо гибридизация с синтетическими зондами, последовательности которых можно вывести из последовательности белка. Работа в этих направлениях проводится в настоящее время.

Экспериментальная часть

В работе использовали штаммы *H. halobium* дикого типа [1], R₁, R₁M₁ [8], S₁, полученный от проф. В. Стокениуса (США), а также мутантный штамм red, не синтезирующий бактериородопсин [9]. Все штаммы выращивали в среде, содержащей 4 М NaCl, 0,12 М Mg₂SO₄, 0,03 М KCl, 0,04 М Na₃-цитрат, 0,5% казаминовые кислоты, pH 7,0 [1].

Рестрикционные эндонуклеазы *EcoRI*, *SalI*, *HindIII* были выделены в нашей лаборатории. Рестрикционные эндонуклеазы *BamHI* и *PstI* предоставлены опытным производством Института биохимии и физиологии микроорганизмов АН СССР. Все продукты не содержали примесей неспецифических экзо- и эндонуклеаз. Реактивы, используемые в работе, имели квалификацию х.ч. или ч.д.а. и использовались без дополнительной очистки.

Плазмиды из различных штаммов выделяли по методике, описанной ранее [5].

Молекулярный вес плазмид определяли по их подвижности в 0,6–0,8% агарозном геле и по сумме молекулярных весов фрагментов, образующихся при обработке плазмид рестрикционными эндонуклеазами. Размеры фрагментов определяли, сопоставляя их подвижность в 0,8% агарозных гелях с подвижностью реперных фрагментов, получаемых при расщеплении ДНК бактериофага λ рестрикционными эндонуклеазами *EcoRI* и *BamHI* [10] и плазмиды pBR 322 рестрикционной эндонуклеазой *EcoRI* [11].

В случае плазмиды из штамма *H. halobium* R₁ молекулярный вес определяли также электронно-микроскопически по контурной длине релаксированного цикла*. Нуклеотидный состав этой плазмиды определяли по температуре плавления** суммы двух фрагментов, образующихся в результате расщепления ее эндонуклеазой *HindIII*. Содержание G·C-пар в плазмиде равно 57±1,5%.

Расщепление плазмид различными эндонуклеазами осуществляли в 10 mM трис-HCl-буфере (pH 7,4–7,6), содержащем 10 mM MgCl₂, 1 mM дитиотреит, 60 mM NaCl. Реакционные смеси содержали 1–2 мкг плазмидной ДНК.

Электрофорез проводили в агарозных пластинках размером 20×20××0,3 см в трис-ацетатном буфере, pH 7,9–8,2 (40 mM трис, 20 mM уксусная кислота, 2 mM EDTA), в течение 14–16 ч при силе тока 25–30 мА. После электрофореза для локализации фрагментов гели окрашивали раствором бромистого этидия (5 мкг/мл) в течение 10–20 мин и фотографировали при УФ-освещении.

Авторы благодарны акад. Ю. А. Овчинникову за постоянное внимание и помощь в выполнении данной работы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Weidinger G., Klotz G., Goebel W. A large plasmid from *Halobacterium halobium* carrying genetic information for gas vacuole formation.— *Plasmid*, 1979, v. 2, № 3, p. 377–386.
2. Simon R. D. Halobacterium strain 5 contains a plasmid which is correlated with the presence of gas vacuoles.— *Nature*, 1978, v. 273, № 5660, p. 314–317.
3. Sumper M., Herrmann G. Biogenesis of purple membrane: regulation of bacteriorhodopsin synthesis.— *FEBS Lett.*, 1976, v. 69, №1, p. 149–152.
4. Ovchinnikov Yu. A., Abdulaev N. G., Feigina M. Yu., Kiselev A. V., Lobanov N. A. The structural basis the functioning of bacteriorhodopsin: an overview.— *FEBS Lett.*, 1979, v. 100, № 2, p. 219–224.

* Электронно-микроскопическое определение проводилось в лаборатории электронной микроскопии ИМБ АН СССР.

** Плавление проводилось М. А. Церельройзенем (ИНОХ СО АН СССР) с использованием микротехники, сконструированной в этом институте.

5. Патон Е. Б., Ходкова Е. М., Свердлов Е. Д. Плазмиды из различных штаммов *H. halobium*.— Биоорг. химия, 1980, т. 6, № 12, с. 1881—1883.
6. Eigner J. Molecular weight and conformation of DNA.— Methods in Enzymol. Acad. Press, 1968, v. XII, p. B, p. 286—429.
7. Moore R. L., McCarthy B. J. Base sequence homology and renaturation studies of the deoxyribonucleic acid of extremely halophilic bacteria.— J. Bacteriol., 1969, v. 99, № 1, p. 255—262.
8. Bayley S. T., Morton R. A. Recent developments in the molecular biology of extremely halophilic bacteria. Crit. Rev.— Microbiol., 1978, v. 6, № 1, p. 151—205.
9. Matsuno-Yagi A., Mukohata Y. Two possible roles of bacteriorhodopsin; a comparative study of strains of *Halobacterium halobium* differing in pigmentation.— Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1977, v. 78, № 1, p. 237—243.
10. Szybalski E. H., Szybalski W. A comprehensive molecular map of bacteriophage λ .— Gene, 1979, v. 7, № 3/4, p. 217—270.
11. Sutcliffe J. G. *pBR 322* restriction map derived from the DNA size markers up to 4361 nucleotide pairs long.— Nucl. Acids Res., 1978, v. 5, № 8, p. 2721—2728.

Поступила в редакцию
28.IV.1981
После доработки
2.VI.1981

PLASMIDS FROM VARIOUS STRAINS OF *HALOBACTERIUM HALOBIUM*

PATON E. B., KHODKOVA E. M., GURIEVA N. M., SVERDLOV E. D.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy
of Sciences of the USSR, Moscow*

Plasmids from the *Halobacterium halobium* strains of wild type, R₁, S₁, R₁M₁, and a red mutant which is defective in bacteriorhodopsin synthesis, have been investigated. The molecular weights of the plasmids as determined by electron microscopy, electrophoresis of the plasmids in agarose gels, and as the sum of the molecular weights of the restriction fragments are 6·10⁷, 2·10⁷, 2·10⁷, 6,3·10⁷ and 5,7·10⁷, respectively. The analysis of the products formed from the plasmids by splitting with restriction endonucleases *EcoRI*, *SalI*, *HindIII*, *PstI*, *BamHI* has been accomplished. It was observed that one of the fragments, formed by digestion of the plasmids from strains R₁, R₁M₁ or S₁ which produce bacteriorhodopsin had the same electrophoretic mobility in all cases. This fragment was not detected in the plasmid from the bacteriorhodopsin defective strain.