



# ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

http://ecobiotech-journal.ru



## ОСОБЕННОСТИ «СТРУКТУРИРОВАННЫХ ПРОЦЕССОВ» В ИНТЕРФАЗНЫХ ЯДРАХ У ПШЕНИЦЫ, ВЫВЕДЕННОЙ В УСЛОВИЯХ ХОЛОДОВОГО СТРЕССА

**Иванова Э.А.**

Уфимский Институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра РАН  
E-mail: [evilinaai@anrb.ru](mailto:evilinaai@anrb.ru)

Проведен анализ динамики локализации аргинин-протео процессинга на уровне молекулярно-генетических систем: лабильного, эу-, гетерохроматина и ядерного матрикса интерфазных ядер при индукции ростового морфогенеза за счет растяжения клеток, вегетативной фазы зрелых зародышей пшениц, прошедших селекционный отбор по созданию перехода: из яровой формы в озимую и из последней вновь в яровую форму. Все три сорта характеризуются разной траекторией прохождения сигнальной системы аргинин-протео процессинга на поверхности раздела белковых-*супер*молекул супрамолекулярных ансамблей крупномасштабной территориальной реорганизации хроматина.

*Ключевые слова:* аргинин-протео процессинг, интерфазный хроматин, пшеница, супрамолекулярная биохимия, эпигенетика

## FEATURES OF "STRUCTURED PROCESSES" IN INTERPHASE NUCLEI OF WHEAT DERIVED UNDER COLD STRESS

**Ivanova E.A.**

Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa  
E-mail: [evilinaai@anrb.ru](mailto:evilinaai@anrb.ru)

The analysis of the localization dynamics of arginine-proteo processing at the level of molecular genetic systems: labile, eu-, heterochromatin and nuclear matrix of interphase nuclei during growth morphogenesis induction due to cell stretching, vegetative phase of mature wheat germ that passed selection for creating a transition: from the spring forms in winter and from last again in the spring form. All three varieties are characterized by a different trajectory of the arginine-proteo processing signaling system on the interface surface of protein-super molecules of supramolecular ensembles of large-scale territorial re-organization of chromatin.

*Keywords:* arginine-proteo processing, interphase chromatin, wheat, supramolecular biochemistry, epigenetics

*Поступила в редакцию: 3.09.2019*

[DOI: 10.31163/2618-964X-2019-2-4-445-450](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-4-445-450)

Согласно приоритетным направлениям, выдвинутых международным консорциумом в 2011г, на следующее десятилетие, в исследовании сельскохозяйственных растений, включен пункт о необходимости понять молекулярные основы взаимодействия генотипа и среды, которые изменяют характеристики растений в различных условиях [EPIC, 2012]. Известно, что филогенетика работает на полногеномном анализе, включающим в себя транскриптомику и протеомику по пространственно-временным фазам развития организма. Однако, экспериментальный подход к представленной проблеме, в данной работе, пока фокусируется только на динамике самоорганизации вегетативного периода интерфазных клеточных ядер при индукции ростового морфогенеза зрелых зародышей пшениц: яровой, выведенной из неё озимой, и вновь выведенной из последней яровой, взятых в качестве модельных объектов исследований из коллекции генофонда ВИР. В свое время мировая коллекция ВИРа, сыграла решающую роль в условиях селекции почти всех культур. С использованием исходного материала ВИРа селекционерами выведены наиболее сильные и генетически продолжительные конструкции. Такой для пшеницы, из всех сортов, по мнению «вировцев», является Безостая 1, Мироновская 808 [Конарев, 1991]. О необходимости

развития частной генетики, то есть генетики отдельного вида, в своё время указывал Н.И.Вавилов [Конарев, 1991]. Эта проблема актуальна и сейчас. Основной задачей в этом направлении является анализ генетического потенциала вида, направленный на познание системы его изменчивости. Экспериментально такие работы проводятся на уровне клеточных ядер зародышей растений [Иванова, Вафина, 1992; Конарев, 1998]. С видом прямо или косвенно имеют дело все биологи, хотя каждый из них, усматривает в этой проблеме свой аспект. В своё время Н.И. Вавилов, заложил основы современной концепции вида и гениально предсказал первостепенную роль в его конструкции – триумвират: генетики, биохимии, физиологии [Конарев, 1991]. В настоящее время методический прогресс сильно продвинул понимание молекулярно-генетической организации интерфазного ядра [Разин, 2018; Разин, Гаврилов, 2018; Cremer et al., 2018; Hancock, 2018]. Становится очевидным, что функциональная динамика топологии интерфазного хроматина вовлечена в контроль регуляции различных взаимосвязанных процессов в определенных областях ядра. Предположено, что один из механизмов, в супрадоменной реорганизации хроматиновой матрицы, может выполнять аргинин-протео процессинг. Это предположение основывается на том, что хроматин ядра богат аргинином [Иванова, Ахметов, 1987] и из всех аминокислот только аргинин способен связываться с ДНК [Волькенштейн, 1985].

Целью данной работы был анализ локализации аргинин-протео процессинга на поверхности раздела белковых-*супер*молекул в супрамолекулярных ансамблях – кариогеномной гексаплоидной системы интерфазного хроматина в зрелых зародышах пшениц при переключении подпрограмм развития, от яровости к озимости и вновь к яровости.

Объектом исследования служили семена суперэлиты пшениц (*Triticum aestivum L.*) сортов: Артемовки (яровая), выведенная из неё Мироновская 808 (озимая) и вновь выведенная из последней Мироновская яровая, полученные из коллекции Всероссийского института растениеводства им. Н.И. Вавилова. Фундаментальные основы экспериментальной биохимии в области клеточных ядер растений были заложены в Уфе В.Г. Конаревым, как продолжение научной школы Н.И. Вавилова [Конарев, 1998]. Представленная экспериментальная работа была проведена на основе патентов разработанных в уфимском институте биологии. Перечень патентов представлен в списке [Ivanova, 2017]. Состояние воздушно-сухого семени и зародыша (находящиеся в состоянии биологического покоя), мы условно приняли за 0ч. Из воздушно-сухих семян (0ч), набухающих под водой в течение 3ч, а далее высеянных для прорастания (6ч) отделяли от эндосперма зародыши, из которых выделяли клеточные ядра, их надмолекулярные топологически ассоциированные ансамбли-супраблочки: нуклеоплазму (Нп) – лабильный хроматин [Конарев, 1998], хроматин непрочно- (Хр-I) и прочно- (Хр-II) связанный с ядерным матриксом (ЯМ) и собственно ЯМ/ Отделение негистоновых белков (Нгб) от гистонов из выделенных супраструктур клеточных ядер проводили по способу [Иванова, 1972]. Аргинин-протео процессинг в супраансамблях, а также в выделенных из них негистоновых и гистоновых белках оценивали по расщеплению *Arg-X* связей в аргинин-обогащенном белке – протамине- *Salmine-A-I* («*Merk*»). Супрамолекулярные ансамбли представляют собой гетерополимерные структуры, состоящие из белков, ДНК, РНК, гексоз [Иванова, Вафина, 1992]. В настоящее время рассмотрение вопросов самоорганизации сложных генных сетей в полигеномных внутриклеточных системах переходит в разряд анализа супрамолекулярной биохимии [Стед, Этвуд, 2007], В концепции супрамолекулярной науки, где в соответствии с информационной программой развития, работающей на основе принципов молекулярного распознавания в кариогеномном

объекте исследования, формируются внутриядерные фазовые супрамолекулярные ансамбли, которые характеризуются определенной спецификой, с проявлением свойств характерных для стадии ростового морфогенеза растений. В этом отношении, **супер**молекулярная физико-химия может рассматриваться как физико-химическая или молекулярная информатика гетерополимерных- супрамолекулярных ансамблей, в молекулах которых уже запрограммирована генетическая память самоорганизации и её реализации в наноциклах, циклах и морфогенетических стадий развития.

**Генетика.** Ядро гексаплоидной пшеницы (*Triticum aestivum* L.) состоит из 3-х гаплоидных наборов хромосом: A<sup>U</sup> B D. Таким образом, это уже является комплексом - совокупностью «геномов», кариогеномика которого представлена тремя кариотипами, в каждом из которых по 7 хромосом. Именно направление науки, которое исследует особенности организации и эволюции «геномов» и субгеномов в исходно полиплоидных ядрах предлагают называть «кариогеномикой» [Зеленин и др., 2016]. Трудности изучения гексаплоидного генома пшеницы *Triticum aestivum* L. состоят в том, что его размер составляет 16 000- 18 000 миллионов пар нуклеотидов [Зеленин, 2003]. Предложено, в таком случае, в условиях эпигенетической адаптации организмов к окружающей среде, применять термин «эпибиохимия» [Бурьянов, 2015]. К числу таких условий относится яровизация растений, как эпигенетически адаптивный процесс, сопровождающийся изменением конформационной структуры кариогеномного интерфазного хроматина. В связи с этим, обсуждаются особенности эпигенетических механизмов наследования приобретенных признаков и границ биологической эволюции [Бурьянов, 2015; Яблоков, 2017]. Яровость это не производство двоичного эффекта включено/ выключено. Тут вся смесь паттернов модификаций нуклеосомного и гистонового года как пути проведения сигналинга. Таким образом, регулярно повторяющиеся факторы окружающей среды и ответные реакции организма на них запоминаются и эпигенетически перепрограммируются в виде адаптивного ответа. Считают, что развертываемые формы предсуществуют в готовом матричном плане биологии развития организма [Бурьянов, 2015; Яблоков, 2017].

**Физиология.** По физиологическим особенностям сформировавшихся зрелых семян, если массу семени Артемовки принять за 100%, то масса семени Мироновской 808 составляет 143%, а масса Мироновской яровой 111%. Однако, по зародышевой массе, в периоде 0ч-3ч-6ч, эти сорта пшениц не отличаются между собой. Этот эффект, по-видимому, связан с особенностями транскрипционной активации хроматина эндосперма, если учитывать данные [Зеленин, Куш, 1985]. Что касается популяционной всхожести (более менее генетической однородности семян), то она имела следующий расклад: Мироновская яровая > Мироновской озимой > Артемовки.

**Биохимия.** Анализ содержания белка на ядро показал, что в указанный временной период по содержанию белка в ядре Мироновская озимая и яровая не отличаются между собой. Однако сорт Артемовки по содержанию белка на ядро значительно превосходит вышеуказанные сорта. В этом отношении есть предположение следующего характера, по-видимому, при выделении клеточных ядер из Артёмовки, происходит активное коллапсирование на поверхность ядра многочисленно скоординированных с органеллами клетки микрофибриллярных взаимосвязей с внутриклеточными органеллами, возможно, с митохондриями. Белковые фракции из клеточных ядер выделяли согласно разработанным методам белковой химии при повышении концентрации ионного раствора. Анализ этих фракций показал, что кроме белка в них содержится ДНК, РНК, гексозы [Иванова, Вафина,

1992]. По процентному выходу белковых компонентов в супрамолекулярных ансамблях хроматина клеточных ядер выявил следующую картину:

Артемовка – яровая	0ч: Нп - 25%, ХрI -25%, ХрII – 21%, ЯМ – 29%
Мироновская 808 – озимая	0ч: Нп - 25%, ХрI - <b>35%</b> , ХрII – 20%, ЯМ – 20%
Мироновская яровая	0ч: Нп - <b>38%</b> , ХрI -15%, ХрII – 22%, ЯМ – 25%
Артемовка – яровая	3ч: Нп - 25%, ХрI -31%, ХрII – 22%, ЯМ – 22%
Мироновская 808 – озимая	3ч: Нп - <b>57%</b> , ХрI -16%, ХрII –12%, ЯМ – 15%
Мироновская яровая	3ч: Нп - 22%, ХрI - <b>55%</b> , ХрII – 20%, ЯМ – 03%
Артемовка – яровая	6ч: Нп - 28%, ХрI -28%, ХрII – 16%, ЯМ – 28%
Мироновская 808 – озимая	6ч: Нп - <b>58%</b> , ХрI -25%, ХрII – 07%, ЯМ – 10%
Мироновская яровая	6ч: Нп - 22%, ХрI - <b>42%</b> , ХрII – 23%, ЯМ – 13%

Таким образом, как видно из представленной картины-схемы, на уровне в крупномасштабной территориальной реорганизации интерфазного хроматина ослабевают ионные связи в Нп-лабильном хроматине и ХрI – эухроматине Мироновской 808 и Мироновской яровой в определенные временные периоды. Данные по оценке структурного состояния лабильного хроматина у растений были впервые показаны в лаборатории Конарева [Конарев, 1998]. Лабильный хроматин представляет собой совокупность диспирализованных в данный момент участков интерфазных хромосом, извлекаемых из клеточного ядра или изолированного тотального нативного хроматина раствором слабой ионной силы (0,14 М NaCl). Он включает преимущественно функционально активные фибриллярные элементы микропуфов, богат негистоновыми белками и новообразованной РНК. Иммунохимический анализ показал, что Нгб маскируют гистоны поверхностно располагаясь на нитях активированного хроматина. В зависимости от вида ткани и функционального состояния растения лабильная ДНК составляет от 5-30% генома. Значительная часть её находится в состоянии преактивации и лишь 1-5% генома в состоянии репликации или транскрипции. Лабелизации хроматина способствуют факторы, стимулирующие ростовые и метаболические процессы в организме. Морфологически это проявляется в переходе части конденсированного хроматина в диффузный. Стабилизации хроматина и генетической активации ДНК в клеточном ядре способствуют все факторы, ингибирующие процессы роста и метаболизма. По данным уфимских сотрудников Конаревского Отдела Биохимии и Цитохимии, во фракции лабильной ДНК, как правило, обнаруживается комплекс с новообразованной РНК, которая обладает высокой комплементарностью (по гибридизируемости) только с лабильной ДНК, того же органа, что свидетельствует об органной и функциональной специфичности состава матричных РНК, а следовательно, и структуры «работающих» в данный момент локусов ДНК [Конарев,1998]. Хроматин практически полностью стабилизирован в ядрах клеток, находящихся в покое, а также в проростках, долго голодающих или прекративших рост на холоде. Следует отметить, что переход генома в функционально активное состояние, связанное с деконденсацией хромосом и усилением транскрипции, сопровождается некоторым увеличением размера ядра, что ранее было отмечено как его «физиологическое набухание). Это явление может быть использовано как показатель функционального состояния генома при оценке стимулирующего влияния на растение тех или иных факторов или гетерозисного эффекта в гибридных поколениях [Конарев,1998]. Ранее в 1966 г. в издательстве «Высшая школа»

тиражом 5500 была выпущена книга «Цитохимия и гистохимия растений», которая быстро разошлась, была переведена на английский язык, издана в Израиле, а затем распространена по ведущим библиотекам мира, включая британскую. В.Г. Конарев об этом узнал, благодаря интернету, только в 2002г.

**Супрамолекулярная биохимия.** Продвижение аргинин-протео процессинга по *супер*молекулярной белковой поверхности супрамолекулярных ансамблей в пространственно-временных фазах пшениц характеризуется следующим образом: **Артемовка-яровая** (0ч-ХрI)→(3ч-ХрI)→(6ч-ХрI+ЯМ); **Мироновская 808-озимая** (0ч)→(3ч)→(6ч-ЯМ); **Мироновская яровая** (0ч)→(3ч-ХрII)→(6ч-ХрII). Продвижение аргинин-протео процессинга по конкретным белковым поверхностям имеет следующий расклад: **Артемовка-яровая** (0ч : Нп-Н3+Н4) → (3ч: Нп-Н3+Н4) → (6ч: Нп-Н3+Н4); **Мироновская 808-озимая** (0ч) → (3ч: ХрI-Нгб; ЯМ-НI) → (6ч: ХрI-Нгб; ХрII- Нгб; ЯМ-Нгб, Н2А+Н2В); **Мироновская яровая** (0ч: Нп-Нгб, ХрII- Нгб, ЯМ-Нгб) → (3ч: Нп-Н2А+Н2В, ХрII- Нгб, Н3+Н4; ЯМ-НI) → (6ч: Нп- НI; ХрI-Н2А+2В; ЯМ- НI, Н3+Н4). Возможно, таким способом функционирует физико-химическая электронная палитра на поверхности раздела белковых *супер*молекул в Вавиловском триумvirате вида: «генетика→физиология→биохимия», которая в настоящее время переходит в разряд супрамолекулярной биохимии, супрамолекулярной и когнитивной науки. Таким образом, результаты экспериментального исследования кариогеномных механизмов реализации эпигенетической информации выявили зоны локализации аргинин-протеазо процессинга на поверхности белкового раздела *супер*молекул супрамолекулярных ансамблей, главным образом, в Нгб и коровых гистонах Н2А+Н2В (где находится специфическая сериновая протеиназа [Watson et al., 1982]) ядерных супраструктур в мезокотилиях вегетативного периода ростового морфогенеза зрелых зародышей пшеницы адаптированной к холодному стрессу.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России № 075-00326-19-00 по теме № НИОКТР АААА-А18-118022190104-7 В работе использована приборная база Центра коллективного пользования «Агидель» УФИЦ РАН.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бурьянов Я.И. Адаптивная эпибиохимия и эпигенетика // Биохимия. 2015, Т. 80. С. 1376-1390.
2. Волькенштейн М.В. Биополимеры и эволюция // Молекулярная биология. 1985. Т. 19. С. 55-66.
3. Зеленин А.В. Геном растений // Вестник РАН. 2003. Т. 73. С. 797-806.
4. Зеленин А.В., Куш А.А. Активация хроматина и некоторые проблемы регуляции генетической активности в эукариотической клетке // Молекулярная биология, 1985, Т. 19, 1, С. 285-294.
5. Зеленин А.В., Родионов А.В., Большова Н.Л., Бадаева Е.Д., Муравенко О.В. Истоки «генома»: происхождение и эволюция термина // Молекулярная биология. 2016. Т. 50. С. 611-620.
6. Иванова Э.А. Фракционирование растительных гистонов на колонках с амберлитом ИРЦ-50 // Материалы третьей научной конференции молодых учёных. 1972. Уфа: Башкирский филиал АН СССР. С. 54-55.
7. Иванова Э.А., Ахметов Р.Р. Модификация негистоновых белков в проростках растений // Физиология растений. 1987. Т. 34. С. 507-512.

8. Иванова Э.А., Вафина Г.Х. Физиолого-биохимический анализ интерфазных ядер в процессе прорастания семян пшеницы // Физиология и биохимия культурных растений. 1992. Т.24. С. 577-583.
9. Конарев В.Г. Н.И. Вавилов и проблемы вида в прикладной ботанике, генетике и селекции. Москва: Агропромиздат, 1991. 47 с.
10. Конарев В.Г. Морфогенез растений и молекулярно-биологический анализ. Санкт-Петербург: Российская академия сельскохозяйственных наук, ВИР им. Н.И. Вавилова, 1998. 370 с.
11. Разин С.В. Структурно-функциональная организация клеточного ядра и регуляция транскрипции: вводные замечания к специальному выпуску журнала // Биохимия. 2018. Т. 83. С. 437-439.
12. Разин С.В., Гаврилов А.А. 2018. Структурно-функциональные домены эукариотического генома // Биохимия. 2018. Т.83. С. 440-451.
13. Сид Дж. В., Этвуд Дж., Л. Супрамолекулярная химия (супрамолекулярная биохимия).. 2007. Москва: ИКЦ «Академкнига». Т. 2. 416с.
14. Яблоков А.В. О механизме эволюции на экосистемном уровне организации жизни // Журнал общей биологии. 2017. Т. 78. С.74-80.
15. Cremer T., Crèmer M., Cremer C. 2018. The 4D Nucleome: Genome compartmentalization in an evolutionary context // Biochemistry (Moscow), Т.83, № 4, С. 313-325.
16. EPIC – epigenomics of plants international consortium // The Plant Cell, 2012. V. 24. P. 2257-2261.
17. Hancock R. 2018. Crowding, entropic forces. and confinement: crucial factors for structures and functions in the cell nucleus // Biochemistry (Moscow), Т.83, № 4, С.326-337.
18. Ivanova E.A. Arg-X proteo-processing as model system for organization of karyogenomics Interphase chromatin of mature germs of wheats, formed in the conditions of cold stress. // Journal of Stress Physiology & Biochemistry. 2017. Т.13, P. 65-73.
19. Watson, D., Moudrianakis E. Histone-dependent reconstitution and nucleosomal localization of a nonhistone chromosomal proteins the H2A-specific protease // Biochemistry. 1982. V.21. P. 248-256.