

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 577.1:576.315.42
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2018-63-3-335-338>

Поступила в редакцию 14.03.2018
Received 14.03.2018

В. Н. Решетников, О. В. Чижик

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ КЛЕТОЧНЫХ ЯДЕР КАЛЛУСОВ РАСТЕНИЙ РАЗНЫХ СИСТЕМАТИЧЕСКИХ ГРУПП

Аннотация. В работе представлены результаты сравнительного анализа липидного состава дезоксирибонуклеопротеидного комплекса (хроматина) клеточных ядер каллусов и эксплантов из растений разных систематических групп (озимая рожь, картофель, горох). Авторами получены данные по составу фосфо- и нейтральных липидов в изучаемых объектах. В эксплантах из зародышей покоящихся семян озимой ржи и стеблей картофеля, характеризующихся низкой метаболической активностью, содержание фосфолипидов значительно превышает этот показатель в каллусах на активной стадии пролиферации. Выявлена общая закономерность – снижение содержания нейтральных липидов, в том числе стеролов в их составе, в каллусах как озимой ржи, так и картофеля. Данные показатели могут быть использованы как маркеры метаболической активности объектов клеточной биологии растений (каллусов и клеточных культур).

Ключевые слова: хроматин, каллусы, экспланты, фосфолипиды, нейтральные липиды

Для цитирования: Решетников, В. Н. Липидный состав клеточных ядер каллусов растений разных систематических групп / В. Н. Решетников, О. В. Чижик // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2018. – Т. 63, № 3. – С. 335–338. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2018-63-3-335-338>

V. N. Reshetnikov, O. V. Chizhik

Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

LIPID COMPOSITION OF CALLUSES CELL NUCLEI OF PLANTS OF DIFFERENT SYSTEMATIC GROUPS

Abstract. The study revealed the results of the comparative analysis of the deoxyribonucleoprotein complex (chromatin) lipid composition in the callus and explant nuclei of plants, belonging to different systematic groups (winter rye, potatoes, peas). It provided the data on the phospho- and neutral lipid composition of the investigated plants and showed that the phospholipid content in the explants from dormant winter rye seed embryos and potato stems, having low metabolic activity, is significantly higher than in the calluses in the stage of active proliferation. Both winter rye and potato calluses tend to have a lower share of neutral lipids, including sterols, in their composition. The revealed factors can be used as markers of metabolic activity of the plant cell biology objects (callus and cell cultures).

Key words: chromatin, calluses, explants, phospholipids, neutral lipids

For citation: Reshetnikov V. N., Chizhik O. V. Lipid composition of calluses cell nuclei of plants of different systematic groups. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 3, pp. 335–338 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2018-63-3-335-338>

Введение. В настоящее время кроме ДНК-связывающих белков доказано участие липидов в качестве компонентов состава клеточных ядер – хроматина (дезоксирибонуклеопротеидного комплекса) и ядерного матрикса, однако данные об их гетерогенности и особенностях в каллусных культурах неполные и противоречивые [1–3].

Цель настоящей работы – изучение состава липидов в хроматине растений разной систематической принадлежности и метаболической активности.

Объекты и методы исследования. Объектами исследования являлись морфогенный первичный каллус картофеля сорта Добро, культивируемый в течение 1 мес.; неморфогенный месячный первичный каллус озимой ржи сорта Пуховчанка и его эксплант (зародыши зерновок); морфогенный, поддерживаемый в культуре *in vitro* на свету каллус гороха сорта Пелюшка.

Культуральные работы проводили по стандартным методикам [4]. Хроматин выделяли с помощью экстрагирования растворами разной ионной силы, количество ДНК определяли спектрофотометрически, общее содержание липидов и отдельных групп нейтральных липидов – методом Амента, фосфолипидов – по фосфору методом Бартлетта [5], предварительное фракционирование суммарной фракции липидов, разделение фосфолипидов и нейтральных липидов – методом тонкослойной хроматографии [5]. Экстракцию липидных веществ осуществляли из свежесодержанных препаратов. К предварительно очищенным растворителям на всех этапах добавляли антиоксидант 2-трет-бутил-4-метил-фенол (Koch-Light, Англия).

Результаты и их обсуждение. Проведенные исследования показали, что во всех препаратах хроматина присутствуют липиды, суммарное содержание которых составляет 103–146 мкг на 1 мг ДНК. В хроматине обнаружены как нейтральные, так и полярные липиды, последние из которых представлены классом фосфолипидов.

Количественная оценка отдельных классов липидов (табл. 1) показала значительные различия у исследуемых препаратов хроматина. Небольшая доля фосфолипидов (29,3 %) содержится в хроматине сухих зародышей ржи, для которых характерны метаболически инертные ядра и транскрипционно неактивный хроматин. Немного выше относительное содержание фосфолипидов в хроматине другого изучаемого экспланта – стеблях картофеля, для которых также характерна невысокая активность.

Т а б л и ц а 1. Содержание фосфо- и нейтральных липидов в хроматине каллусных культур и эксплантов, мкг/мг ДНК

Table 1. Phospho- and neutral lipids content in chromatin of callus cultures and explants, mkg/mg DNA

Объект		Фосфолипиды	Нейтральные липиды
Рожь	Каллус	37,8 ± 2,1	64,7 ± 3,2
	Зародыши	29, ± 2,7	80,7 ± 4,3
Картофель	Каллус	97,0 ± 4,3	49,2 ± 2,1
	Стебель	32,6 ± 2,7	70,4 ± 3,0
Горох	Каллус	79,7 ± 3,3	41,4 ± 2,3

Повышенное содержание фосфолипидов в составе общих липидов характерно для морфогенных каллусов гороха (79,7 мкг на 1 мг ДНК) и молодых каллусов картофеля (97,0 мкг на 1 мг ДНК). Это подтверждает высказанное предположение об обогащении фосфолипидами транскрипционно активного хроматина. Действительно, по данному признаку к активному хроматину дифференцированных тканей близок хроматин каллусов гороха и молодых каллусов картофеля, что подтверждалось цитологическими наблюдениями и физиологией развития культуры [6, 8].

В связи с этим был изучен состав фосфолипидов хроматина каллусных культур, в результате чего обнаружено 4 компонента: фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилинозит, фосфатидилсерин (табл. 2). В морфогенных каллузах картофеля основное количество (по отношению к ДНК) приходится на фосфатидилинозит и фосфатидилсерин, тогда как с стеблях картофеля и хроматине ржи в составе фосфолипидов преобладали фосфатидилхолин и фосфатидилэтаноламин. Возможно, определенное соотношение фосфолипидов специфично для каллусных культур с различной способностью к морфогенезу. Следует отметить, что при изучении полярных липидов в клетках суспензионных культур ряда растений и в процессе дифференцировки каллусов некоторые исследователи особое внимание уделяют различным формам фосфатидилинозита, которые наиболее полно представлены в мембранах.

Т а б л и ц а 2. Состав фосфолипидов хроматина каллусной ткани картофеля

Table 2. Composition of chromatin phospholipids of potato callus tissue

Фосфолипид	Содержание, мкг/мг ДНК	% от суммы фосфолипидов
Фосфатидилхолин	17,4 ± 1,7	17,9
Фосфатидилэтаноламин	22,0 ± 1,9	22,7
Фосфатидилинозит	29,8 ± 2,0	30,7
Фосфатидилсерин	27,8 ± 1,9	28,7

Роль фосфатидилинозита в клетке вне мембран к настоящему времени не ясна, поскольку все исследование липидных веществ в улеточных и каллусных культурах проводится на целых органах и тканях (а не на препаратах хроматина). Вызывает интерес и то обстоятельство, что количество каждого из фосфолипидов на единицу ДНК составляло величину, близкую к содержанию каждого из четырех типов нуклеотидов ДНК. Представляется не случайным, что показатель суммарного содержания фосфатидилхолина и фосфатидилинозита составляет величину, близкую к таковой у фосфатидилэтаноламина и фосфатидилсерина. Напомним, что полярные молекулы указанных четырех фосфолипидов теоретически могут взаимодействовать с соответствующими группами цитозина, аденина, тимина, гуанина нуклеотидов молекулы ДНК и участвовать в регуляции активности генома.

Кроме фосфолипидов (полярных липидов) изучена гетерогенность неполярных (нейтральных) липидов хроматина каллусной ткани и исходных эксплантов (табл. 3). Обязательными компонентами нейтральных липидов являются стеролы, жирные кислоты, ди- и триацилглицеролы и эфиры стеролов. Несмотря на один и тот же качественный состав, соотношения отдельных компонентов нейтральных липидов в хроматине исследуемых каллусов и эксплантов различны.

Таблица 3. Сумма нейтральных липидов хроматина каллусных культур и эксплантов (мкг/мг ДНК)
Table 3. The sum of neutral lipids of chromatin callus cultures and explants (mkg/mg DNA)

Липиды	Рожь		Картофель		Горох
	Каллус	Зародыш	Каллус	Стебель	Каллус
Стеролы	6,9 ± 0,2	36,8 ± 1,1	10,5 ± 0,3	35,1 ± 1,1	10,7 ± 0,3
Жирные кислоты	14,7 ± 0,3	15,6 ± 0,3	9,9 ± 0,2	14,1 ± 0,3	11,7 ± 0,3
Диацилглицеролы	12,1 ± 0,3	7,3 ± 0,2	11,0 ± 0,3	5,0 ± 0,2	2,6 ± 0,1
Триацилглицеролы	7,6 ± 0,2	7,8 ± 0,3	4,3 ± 0,1	4,1 ± 0,1	2,6 ± 0,1
Эфиры стеролов	23,4 ± 0,8	13,2 ± 0,4	13,5 ± 0,3	13,5 ± 0,3	13,8 ± 0,4

Довольно значительной оказалась группа стеролов (собственно стеролы и эфиры стеролов). Данная группа во всех препаратах хроматина составляла около 50 % от общего количества нейтральных липидов. Показатели относительного количества этих форм стеролов различались: наибольшее содержание стеролов выявлено в хроматине стеблей картофеля и зародышей ржи, наименьшее – в хроматине каллусов исследуемых культур. Обратная картина наблюдалась для эфиров стеролов, содержание которых было выше в хроматине каллусов и ниже в хроматине метаболически неактивной ткани эксплантов. Как показали наши исследования, в препаратах хроматина дифференцированной ткани ржи содержание компонентов нейтральных липидов четко коррелировало с уровнем транскрипционной активности хроматина: в неактивном хроматине суммарное содержание стеролов составило около половины нейтральных липидов, в активном – в 1,5–2 раза меньше.

Что касается основных компонентов нейтральных липидов, следует отметить более высокое содержание диацилглицеролов в хроматине каллусов картофеля и ржи по сравнению с эксплантами. Существенным, на наш взгляд, является то обстоятельство, что во всех препаратах хроматина отмечалось довольно значительное содержание свободных жирных кислот, однако оно было меньше, чем в каллусных культурах. В этом плане интерес представляют результаты [7, 8], согласно которым холестерин и свободные жирные кислоты участвуют в поддержании суперспирализации ДНК, а значит, они содействуют снижению транскрипционной активности хроматина [8, 9].

Заключение. Таким образом, принимая во внимание полученные данные, следует считать, что липидный состав хроматина каллусных тканей существенно отличается от такового у эксплантов. Наиболее измененным, специфичным по липидному составу представляется хроматин неморфогенных каллусов ржи, а наиболее близким к полноценному хроматину – хроматин каллусов картофеля.

Кроме того, представленные данные по липидному составу хроматина каллусных тканей подтвердили полученные нами ранее результаты о функциях отдельных групп липидных веществ в ядерном геноме растительной клетки.

Благодарности. Авторы выражают благодарность Р. А. Ненадович, Л. Г. Бердичевец, Ж. Г. Сятковской за содействие в работе.

Acknowledgements. The authors are grateful R. A. Nenadovich, L. G. Berdichevets, Zh. G. Syatkovskaya for assistance in the work.

Список использованных источников

1. Chromatin EMT: visualizing 3D chromatin structure and compaction in interphase and mitotic cells / D. H. Ou [et al.] // *Science*. – 2017. – Vol. 357, N 6349. – P. eaag0025. <https://doi.org/10.1126/science.aag0025>
2. Heslop-Harrison, J. S. Comparative genome organization in plants: from sequence and markers to chromatin and chromosomes / J. S. Heslop-Harrison // *Plant Cell*. – 2000. – Vol. 12, N 5. – P. 617–635. <https://doi.org/10.2307/3870990>
3. Решетников, В. Н. Дезоксирибонуклеопротеидный комплекс: структурная организация и функции (на примере высших растений) // *Проблемы экспериментальной ботаники* : сб. ст. / Ю. К. Виноградова, В. Н. Решетников ; отв. ред. А. В. Пугачевский. – Минск, 2015. – С. 80–124.
4. Калинин, Ф. Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Ф. Л. Калинин, В. В. Сариацкая, В. Е. Полищук. – Киев : Наук. думка, 1980. – 488 с.
5. Техника биохимического исследования субклеточных структур и биополимеров растительной клетки / О. К. Лаптева [и др.] ; под ред. А. С. Вечера. – Минск : Наука и техника, 1986. – 196 с.
6. Стручков, В. А. Структурные и функциональные аспекты ядерных липидов нормальных и опухолевых клеток / В. А. Стручков, Н. Б. Стражевская // *Биохимия*. – 2000. – Т. 65, № 5. – С. 620–643.
7. Решетников, В. Н. Особенности липидного состава ядерного матрикса каллусных тканей тритикале / В. Н. Решетников, Р. А. Ненадович // *Докл. Акад. наук Беларуси*. – 1995. – Т. 39, № 6. – С. 68–71.
8. Решетников, В. Н. Изменения липидного состава интерфазных клеточных ядер ржи при экспрессии генома / В. Н. Решетников, Р. А. Ненадович, В. И. Горбачевич // *Докл. Нац. акад. наук Беларуси*. – 2000. – Т. 44, № 6. – С. 56–59.

References

1. Ou H. D., Phan S., Deerinck Th. J., Thor A., Ellisman M. H., O’Shea C. C. Chromatin EMT: visualizing 3D chromatin structure and compaction in interphase and mitotic cells. *Science*, 2017, vol. 357, no. 6349, p. eaag0025. <https://doi.org/10.1126/science.aag0025>
2. Heslop-Harrison J. S. Comparative genome organization in plants: from sequence and markers to chromatin and chromosomes. *Plant Cell*, 2000, vol. 12, no. 5, pp. 617–635. <https://doi.org/10.2307/3870990>
3. Reshetnikov V. N. Deoxyribonucleoprotein complex: structural organization and functions (by the example of higher plants). *Problemy eksperimental'noi botaniki: sbornik statei* [Problems of experimental botany: a collection of articles]. Minsk, 2015, pp. 80–124 (in Russian).
4. Kalinin F. L., Sariatskaya V. V., Polishchuk V. E. *Techniques of tissue culture in plant physiology and biochemistry*. Kiev, Naukova dumka Publ., 1980. 488 p. (in Russian).
5. Lapteva O. K., Masnyi M. N., Bulko O. P., Nenadovich R. A., Reshetnikov V. N., Mas'ko A. A. *Technique of biochemical investigation of subcellular structures and biopolymers of plant cells*. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1986. 196 p. (in Russian).
6. Struchkov V. A., Strazhevskaya N. B. Structural and functional aspects of nuclear lipids in normal and tumor cells. *Biochemistry (Moscow)*, 2000, vol. 65, no. 5, pp. 525–545, 620–643.
7. Reshetnikov V. N., Nenadovich R. A. Features of lipid composition of the nuclear matrix of triticale callus tissue. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 1995, vol. 39, no. 6, pp. 68–71 (in Russian).
8. Reshetnikov V. N., Nenadovich R. A., Gorbachevich V. I. Changes in lipid composition of rye interphase cell nuclei during the genome expression. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2000, vol. 44, no. 6, pp. 56–59 (in Russian).

Информация об авторах

Решетников Владимир Николаевич – академик, д-р биол. наук, профессор, заведующий отделом. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: V.Reshetnikov@cbg.org.by

Чижик Ольга Владимировна – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: Chizhikolga17@gmail.com

Information about the authors

Vladimir N. Reshetnikov – Academician, D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Department. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: V.Reshetnikov@cbg.org.by

Olga V. Chizhik – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: Chizhikolga17@gmail.com