

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Potapov A. P. A stereospecific mechanism for the aminoacyl selection at the ribosome // FEBS Lett.—1982.—146, N 1.—P. 5—8.
2. Потатов А. П. Механизм стереоспецифической стабилизации кодон-антикодонных комплексов на рибосомах в ходе трансляции // Журн. общ. биологии.—1985.—46, № 1.—С. 63—77.
3. McCarthy B. J., Holland J. J. Denaturated DNA as a direct template for *in vitro* protein synthesis // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1965.—54, N 3.—P. 880—886.
4. Salas J., Bollum F. J. Biosynthetic polydeoxynucleotides as direct templates for polypeptide synthesis // J. Biol. Chem.—1986.—243, N 5.—P. 1012—1015.
5. Сравнительное изучение матричной активности поли(У) и поли(dT) в бесклеточных белоксинтезирующих системах из *Escherichia coli* и зародышей пшеницы / А. П. Потатов, К. А. Солдаткин, А. П. Солдаткин, А. В. Ельская // Биополимеры и клетка.—1988.—4, № 3.—С. 133—138.
6. The role of template sugar-phosphate backbone in the ribosomal decoding mechanism. Comparative study of poly(U) and poly(dT) template activity / A. P. Potapov, K. A. Soldatkin, A. P. Soldatkin, A. V. El'skaya // J. Mol. Biol.—1988.—203, N 3.—P. 885—893.
7. Davies J., Gilbert W., Gorini L. Streptomycin, suppression and the code // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1964.—51, N 5.—P. 883—890.
8. Миллер Дж. Эксперименты в молекулярной генетике.—М.: Мир, 1984.—436 с.
9. Неоднозначность трансляции полирибидиновой кислоты транспортными РНК из различных эукариотических объектов / А. П. Солдаткин, Н. И. Желтовская, Г. В. Овчаренко, А. В. Ельская // Укр. биохим. журн.—1983.—55, № 6.—С. 603—607.

Ин-т молекуляр. биологии и генетики
АН УССР, Киев

Получено 06.02.89

THE EFFECT OF *ESCHERICHIA COLI* RIBOSOMAL PROTEIN *S12* MUTATIONS ON THE EFFICIENCY OF DEOXYRIBONUCLEOTIDE MATRIX POLY(dT) TRANSLATION

I. S. Groisman, A. P. Potapov

Institute of Molecular Biology and Genetics,
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

Summary

The efficiency of poly(dT) translation has been studied in cell-free systems from wild-type *E. coli* and streptomycin-resistant mutants with altered ribosome protein *S12*. The data show that there is a positive correlation between poly(U) misreading and efficiency of poly(dT) translation. Mutant ribosomes translate poly(U)-template more accurately than ribosomes from wild-type bacteria and they are less efficient in translation of poly(dT) as well. The ribosome seems to select codon-anticodon pair as a whole unit. The data are in good agreement with hypothesis of stereospecific stabilization of codon-anticodon complex by the ribosome.

УДК 577.21:581.143.6:633.511

Ш. А. Аршаджанов, Х. А. Хакимов, Ш. Х. Ходжаева

БИОСИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И БЕЛКОВ В КЛЕТКАХ ХЛОПЧАТНИКА В СТАДИИ КАЛЛУСОГЕНЕЗА

В культуре ткани тетраплоидных видов хлопчатника *Gossypium hirsutum* L. и *G. barbadense* L., и также их гибридной линии А-4118 исследована динамика активности синтеза ДНК, РНК и белков в процессе каллусогенеза с помощью ³H-тимидина, ³H-уридина и ¹⁴C-лейцина. Обнаружены некоторые особенности включения меченых предшественников в клетки хлопчатника в различные фазы каллусогенеза.

Введение. Метаболизм клеток растений, в частности хлопчатника, в ходе дедифференцировки и последующего активного деления пока еще изучен недостаточно полно. Между тем знание молекулярных механиз-

мов процесса перехода растительной клетки из ее нормального состояния в дедифференцированное и наоборот в контролируемых физико-химических условиях выращивания имеет большое значение для понимания особенностей таких жизненно важных биологических процессов, как клеточное деление, дифференциация и морфогенез.

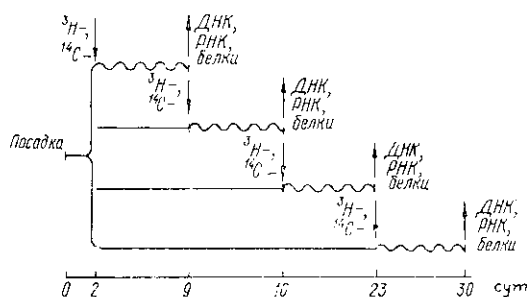
Удобной моделью для изучения на молекулярном уровне процесса дедифференцировки клеток является культура ткани [1]. В связи с этим целью настоящей работы явилось изучение активности биосинтеза нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) и белков с помощью меченых предшественников в каллусных тканях хлопчатника в процессе каллусогенеза.

Материалы и методы. Объектом исследования служили каллусные ткани тетраплоидных видов хлопчатника *Gossypium hirsutum* L. (сорт Краснолистая Акала), *G. barbadense* L. (сорт С-6030), а также их гибридной линии А-4148 из коллекции Ин-та эксперим. биологии растений АН УзССР.

Каллусные ткани получали из сегментов гипокотыля 8–10-дневных стерильных проростков на агаризованной модифицированной среде Мурасиге—Скугу, как описано

Рис. 1. Схема экспериментов по изучению активности синтеза ДНК, РНК и белков в культуре ткани хлопчатника с помощью меченых предшественников (^3H -тимидина, ^3H -уридина, ^{14}C -лейцина) в процессе каллусогенеза

Fig. 1. The general scheme of experiments on study of activity of DNA, RNA and proteins synthesis in cotton tissue culture by means of labeled predecessors (^3H -thymidine, ^3H -uridine, ^{14}C -leucine) during callusogenesis phase



в предыдущей нашей работе [2]. Через 1–2 дня после начала выращивания эксплантаты пересаживали в колбы (50 мл) с объемом питательной среды 10 мл; в дальнейшем эти условия выращивания являлись стандартными. Условия светового режима: 12,5 ч освещения при интенсивности 3 клк. Температура при культивировании тканей составила 28 ± 2 °C.

Визуально каллусогенез у хлопчатника обнаруживается на 4–5-й день после начала выращивания сегментов гипокотыля в условиях *in vitro*. Примерно к 30-му дню образуется хороший рыхлый каллус на верхнем срезе сегмента, после чего обычно проводили пассирование каллусной ткани. В этой связи мы исследовали метаболизм нуклеиновых кислот и белков в течение первых 30 дней роста эксплантата *in vitro*. Для этого весь период разделили на четыре равные части по 7 дней (2–9, 9–16, 16–23, 23–30-й дни) и исследовали характер включения метки в нуклеиновые кислоты и белки. Первичные эксплантаты переносили на среду, содержащую меченые предшественники синтеза ДНК (^3H -тимидин, 0,04 МБк/мл), РНК (^3H -уридин, 0,04 МБк/мл) и белка (^{14}C -лейцин, 0,02 МБк/мл). Каллусные клетки метили в течение 7 дней — в соответствии со схемой экспериментов (рис. 1).

ДНК, РНК и белки выделяли из каллусных тканей и очищали сразу после окончания инкубирования эксплантата на меченой среде, как описано в [3]. Радиоактивные препараты ДНК, РНК и белка собирали на стеклянных фильтрах GF/C («Whatman», Англия). Активность фильтров измеряли с помощью сцинтилляционного счетчика типа «Бета-1». Результаты экспериментов представляли в виде графиков зависимости удельной активности пробы (в расчете на 100 мг сырой навески каллусной ткани) от времени мечения. Эксперименты проводили в 3-кратной повторности.

Результаты и обсуждение. Данные анализа интенсивности включения меченых предшественников в нуклеиновые кислоты и белки представлены на рис. 2.

Следует отметить довольно высокий уровень метаболизма в каллусных клетках хлопчатника: интенсивность включения каждого из ме-

ченных предшественников составляет в среднем несколько десятков тысяч имп/мин на 100 мг каллусной ткани.

Вместе с тем обнаружены различия в характере метаболизма нуклеиновых кислот и белков в различные периоды каллусогенеза. Как следует из рис. 2, начальный период этого процесса характеризуется наибольшей активностью включения метки в нуклеиновые кислоты. Затем наблюдается резкий (в 3—4 раза) спад включения меченых предшественников в каллусные клетки, после чего интенсивность синтеза

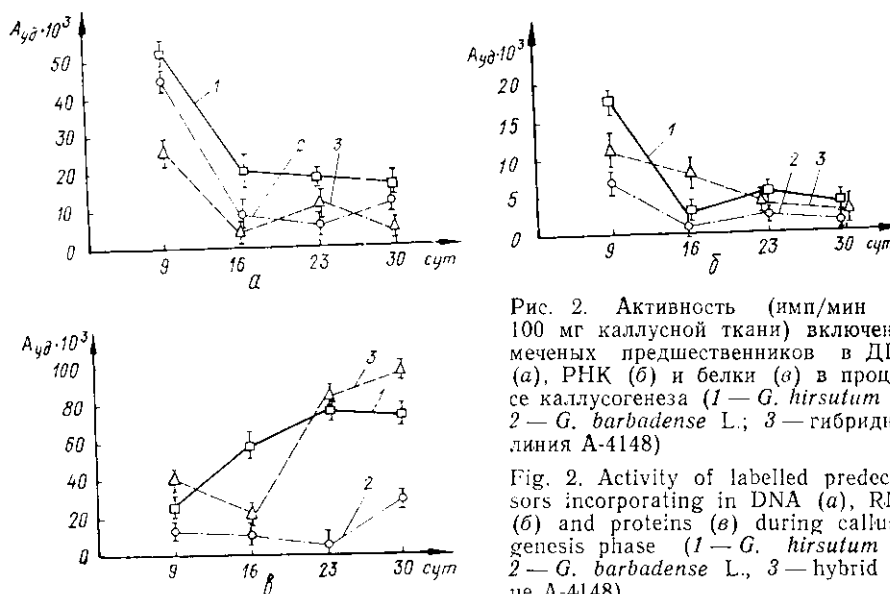


Рис. 2. Активность (имп/мин на 100 мг каллусной ткани) включения меченых предшественников в ДНК (а), РНК (б) и белки (в) в процессе каллусогенеза (1 — *G. hirsutum* L.; 2 — *G. barbadense* L.; 3 — гибридная линия А-4148)

Fig. 2. Activity of labelled precursors incorporating in DNA (a), RNA (b) and proteins (c) during callusogenesis phase (1 — *G. hirsutum* L., 2 — *G. barbadense* L., 3 — hybrid line A-4148)

ДНК и РНК становится практически постоянной: кривые выходят на плато примерно с 21-го дня. Наличие этого плато указывает, по-видимому, на тот минимальный уровень активности синтеза нуклеиновых кислот, который необходим клетке для поддержания ее в режиме интенсивного деления. Следует отметить при этом, что включение метки в РНК и ДНК имеет одинаковый характер для всех исследованных объектов — как у родителей, так и у их гибридной линии.

В отличие от синтеза нуклеиновых кислот биосинтез белков характеризуется увеличением активности в ходе процесса каллусогенеза (рис. 2, в). Так, интенсивность включения ^{14}C -лейцина в каллусные клетки Кр. Акалы и гибридной линии А-4148 увеличивается от 30—40 тыс. имп/мин в начале фазы каллусогенеза до 80—100 тыс. имп/мин к 30-му дню, т. е. в 2—3 раза. В каллусных клетках хлопчатника сорта С-6030 наблюдается несколько меньшая по абсолютной величине интенсивность синтеза белков, но к концу каллусогенеза уровень включения ^{14}C -лейцина увеличивается также примерно вдвое. Таким образом, активность биосинтеза белка как у обоих родителей, так и у их гибридной линии характеризуется общей тенденцией к увеличению к концу исследуемого процесса каллусогенеза. Этот факт указывает на то, что, возможно, для интенсивного деления клеток после перехода их в дедифференцированное состояние необходимо определенное достаточно большое количество белков, обеспечивающих активацию или репрессию различных участков генома. Последнее необходимо для перевода и поддержания клетки в том или ином состоянии.

Отметим, что обнаруженные особенности характера включения метки в нуклеиновые кислоты и белки являются общими как для родительских каллусных клеток, так и для клеток каллусной ткани их гибридной линии. Это свидетельствует в пользу существования определенной генетической детерминированности реакции клетки на перенос ее

из нативных условий в искусственно созданные и контролируемые физико-химические условия выращивания *in vitro*.

С другой стороны, как следует из литературных данных, отмеченные особенности имеют общий характер и в физиологическом плане. Так, на ряде объектов (правда, большей частью при исследовании суспензионных культур) показано, что содержание РНК и ДНК в клетках после переноса в условия выращивания *in vitro* в начальный период культивирования увеличивается в 2—4 раза, а затем уменьшается [4, 5]. При исследовании метаболизма белков обнаружено, что выход ткани из состояния покоя и переход клеток к интенсивному делению сопровождается увеличением активности синтеза белков также в несколько раз [1, 6].

Таким образом, результаты, полученные в настоящей работе, свидетельствуют об общей физико-химической основе тех первичных процессов и реакций, которые происходят в клетках растений, в том числе и хлопчатника, в условиях культивирования их *in vitro*. Более детальное изучение особенностей и молекулярных механизмов этих процессов является задачей наших дальнейших исследований.

BIOSYNTHESIS OF NUCLEIC ACIDS AND PROTEINS IN COTTON CELLS DURING CALLUSOGENESIS PHASE

Sh. A. Aripdjanov, Kh. A. Khakimov, Sh. Kh. Khodjaeva

Institute of Plant Experimental Biology,
Academy of Sciences of Uzbek SSR, Tashkent

С и м м а р у

The biosynthesis activity of nucleic acids (DNA and RNA) and proteins during callusogenesis phase in tetraploid cells of *G. hirsutum* L., *G. barbadense* L. as well as their hybrid line A-4148 was studied to research cell metabolism in cotton tissue culture. Nonuniform character of incorporation of labelled predecessors in cells during different periods of callusogenesis is found. The activity of label incorporation in nucleic acids reaches its maximum level in the first 6-8 days, then decreases to definite constant level in the terminal part of callusogenesis phase. Synthesis of proteins in cotton cells during callusogenesis is distinguished by tendency to an increase of its intensity. These peculiarities of nucleic acids and proteins metabolism are characteristic of both parents and of their hybrid line, indicating to a definite bond between genotype of cell and its reaction to transfer from native conditions to artificial ones

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Калинин Ф. Л., Сарнацкая В. В., Полищук В. Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений.— Киев: Наук. думка, 1980.—487 с.
2. Арипджанов Ш. А., Хакимов Х. А., Ходжаева Ш. Х. Нуклеиновые кислоты и белки в каллусной ткани хлопчатника // Докл. АН УзССР.— 1988.— № 9.— С. 55—56.
3. Арипджанов Ш. А., Абдураимова К., Ибрагимов А. П. Биосинтез нуклеиновых кислот и белков до и после оплодотворения семян у разноплодных форм хлопчатника // Узб. биол. журн.— 1981.— № 4.— С. 12—14.
4. Short K. C., Brown E. G., Street H. E. Studies on the growth in culture of plant cells. 6. Nucleic acids metabolism of *Acer pseudoplatanus* L. cell suspension // J. Exp. Bot.— 1969.— 20, N 64.— P. 579—590.
5. Nash D. T., Davies M. E. Some aspects of growth and metabolism of Paul's scarlet rose cell suspension // Ibid.— 1972.— 23, N 74.— P. 75—91.
6. Дмитриева Н. Н. Особенности метаболизма белка и нуклеиновых кислот в процессе дифференциации клеток сердцевинной паренхимы стебля табака // Культура изолир. органов, тканей и клеток растений: Тез. докл. I Всесоюз. конф.— М.: Наука, 1970.— С. 101—106.

Ин-т эксперим. биологии растений
АН УзССР, Ташкент

Получено 16.09.88