

КОРОТКИЙ ЗВІТ

по темі “Фізико-хімічні властивості біомембран рослинних клітин в умовах мікрогравітації: цитоплазматична та енергетична мембрани”, що виконується в рамках Цільової комплексної програми по космічним дослідженням НАН України, 2013–2016 рр.

(Виконавці: Кордюм Є.Л., Бриков В.О., Інститут ботаніки ім. М.Г. Колодного НАНУ)

За звітний період проведено 8 експериментів з проростками гороху, що росли в умовах повільного горизонтального кліноостатування (модельована мікрогравітація) від 6 до 12 діб. Результати порівняльних досліджень ліпідного та жирнокислотного складу фракції цитоплазматичної мембрани, ізольованої із коренів проростків гороху в контролі та експерименті, підтвердили попередні дані щодо змін цих показників під впливом кліноостатування, тобто чітко продемонстрували гравічутливість ліпідного бішару мембрани. Тому основна увага була приділена відпрацюванню методу виділення із цитоплазматичної мембрани фракції ліпідних рафтів, які є особливими ділянками (мікродоменами) цитоплазматичної мембрани, впливають на текучість мембрани, регулюють переміщення мембранних білків та рецепторів і таким чином координують базові клітинні процеси. Ліпідні рафти більш структуровані та упаковані щільніше, ніж оточуючий їх ліпідний бішар, при цьому вони здатні вільно переміщуватись в ньому (Lefebvre et al., 2007) та з'єднуватись один з одним у великі кластери (Borner et al., 2004, Diaz-Rohrer et al., 2014). Як і в клітинах тварин, в рослинних клітинах рафти беруть участь в сигналінгу та відповідях на стрес (Gerbeau-Pissot et al., 2013).

За основу для опрацювання методики виділення рафтів з коренів проростків гороху було взято методику, розроблену для коренів люцерни (Lefebvre et al., 2007). Методику виділення рафтів було адаптовано до коренів гороху за схемою (рис. 1)



Рис. 1. Схема виділення фракції рафтів з коренів проростків гороху.

Контроль отриманої фракції за допомогою електронної мікроскопії чітко довів, що фракція містила рафти, які мають вигляд тонких стрічок різної довжини (рис. 2).

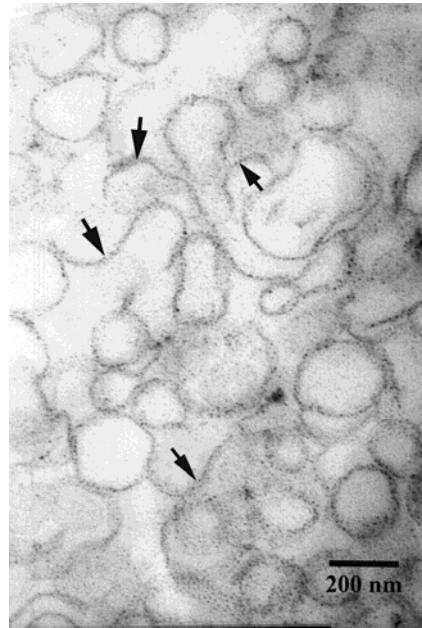


Рис. 2. Фракція рафтів, виділена із цитоплазматичної мембрани коренів проростків гороху, які росли в умовах кліностакування. Стрілки вказують на рафти.

Встановлено, що найбільший відсоток рафтів з фракції цитоплазматичної мембрани можна отримати при співвідношенні Тритону Х-100 до кількості білків мембрани, що дорівнює 10-15:1. Таким чином, вперше опрацьовано методику виділення рафтів із цитоплазматичної мембрани коренів гороху та вперше отримано фракцію рафтів коренів проростків гороху, які зазнавали впливу модельованої мікрогравітації. В даний час проводиться аналіз складу жирних кислот та фосфоліпідів фракції рафтів за допомогою газового хроматографа Carlo Erba Instruments HRGC 5300 (Італія).

Порівняльні дослідження ультраструктури та функціонального складу енергетичних органел –хлоропластів і мітохондрій – в листках проростків гороху, які росли в стаціонарних умовах та на кліностаті, показали, що для функціонування фотосинтетичного апарату (хлоропласти) та детермінації вуглецевого живлення умови освітлення відіграють першочергову роль при дії модельованої мікрогравітації. Навпаки, структурно-функціональна організація мітохондрій не залежала від рівня освітлення, а чітко змінювалася під впливом кліностакування: суттєве збільшення площі органел (рис. 3), кількості та загальної площі крист (рис. 4), підвищення мітохондріального дихання, що співпадало зі зростанням потужності альтернативного дихання мітохондрій.

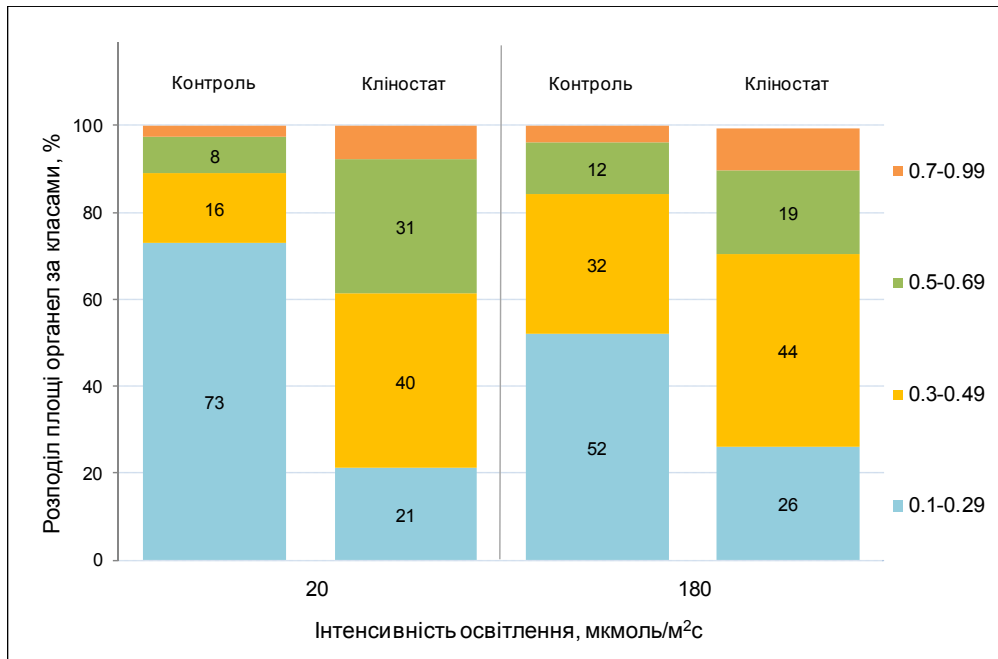


Рис. 3. Гістограма розподілу площі мітохондрій в клітинах палісадної паренхіми листків рослин гороху, які росли за оптимального ($180 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{s}^{-1}$) та низького ($20 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{s}^{-1}$) рівня фотосинтетично-активної радіації в контролі та в умовах кліноста́тування.

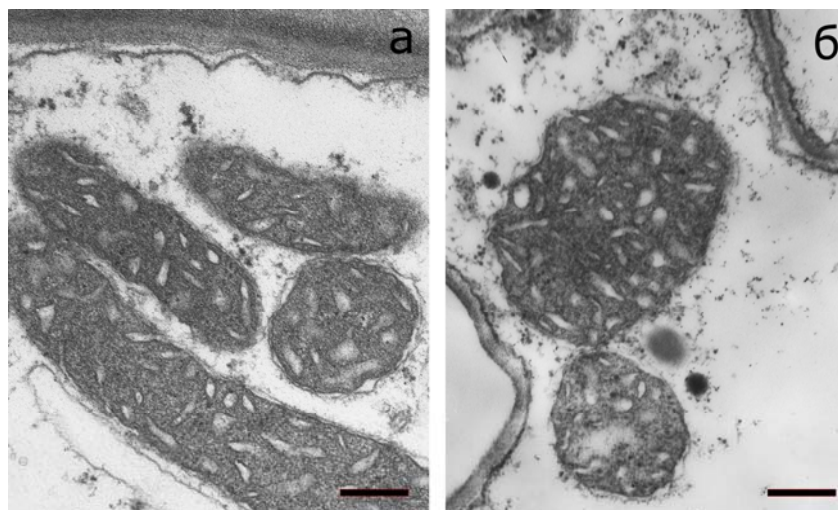


Рис. 4. Мітохондрії в клітинах мезофілу листків гороху, що зростали в контролі та за умов кліноста́тування при освітленні $180 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ фотосинтетично-активної радіації.

Таким чином, встановлено різну ступінь гравічутливості енергетичних органел рослинних клітин. Функціонування фотосинтетичного апарату переважно визначається інтенсивністю світла, що чітко демонструють результати проведених нами експериментів та їхнє порівняння з даними космічних експериментів. Структурно-функціональні зміни мітохондрію рослинних клітин в умовах кліноста́тування рзгдяються як адаптивні реакції на дію реальної або модельованої мікрогравітації для забезпечення клітини

енергією в нових умовах існування. Одержані дані мають безпосереднє прикладне значення для розробки технологій космічного рослинництва, акцентуючи увагу на необхідність створення оптимального освітлення щодо інтенсивності та спектру стосовно певних сільськогосподарських культур і відкривають нові підходи для проведення подальших фундаментальних досліджень взаємозв'язку хлоропластів і мітохондрій в процесі адаптації рослин до умов мікрогравітації. Очікується, що аналіз ліпідного, жирно кислотного та білкового аналізу вперше одержаної фракції рафтів із цитоплазматичної мембрани коренів проростків гороху, що росли в умовах кліностагування, надасть нові оригінальні дані щодо гравічутливості рафтів і, таким чином, їхнього впливу на базові клітинні процеси при дії мікрогравітації.

Дослідження ведуться спільно з Nature Research Centre, Lithuania, Institut d'Ecologie et des Sciences de l'Environnement de Paris CNRS .

По матеріалах досліджень у 2015 р. надруковано:

Статті

1. Brykov V, Kordyum E. Clinorotation impacts root apex respiration and the ultrastructure of mitochondria. // Cell Biol. Int. 2015.–39, No 4.–P.475-483.

2. Kolesnikov Ya .S .,KretyninV ,Volotovskiy I.D.Kordyum E.L.Ruelland E. Kravets V.S. Molecular mechanisms of gravity perception and signal transduction in plants // Protoplasma . – 2015. –DOI 10.1007/s 00709 – 015 – 0859-5.

3. Кордюм Є.Л. Недуха О.М. Грахов В.П., Воробйова Т.В., Клименко О.М., Жупанов І.В. Дослідження впливу модельованої мікрогравітації на біліпідний шар цитоплазматичної мембрани рослинних клітин // Космічна наука і технологія. – 2015.–21, 3.—С. 40–47.

4. Бриков В.О. Біоенергетика рослинних клітин в умовах мікрогравітації// Космічна наука і технологія. .–2015.–21, 3.—С. 84–93.

Тези та доповіді на конференціях і симпозиумах в Словенії, Греції та Україні

1. Kordyum E., Nedukha O., Grahov V., Vorob'eva T., Klymenko O., Zhupanov I. Plasmalemma lipid bilayer of pea seedlings is sensitive to clinorotation. Book of Abstracts "36th Annual Meeting of ISGP". June 7–12, 2015, Ljubljana, Slovenia, P. 114.

2. Brykov V. Reaction of mitochondria in *Pisum sativum* to clinorotation. Book of Abstracts "36th Annual Meeting of ISGP". June 7–12, 2015, Ljubljana, Slovenia, P. 119.

3. Nedukha O. Redistribution of Ca^{2+} -ATPase activity in *Pisum sativum* root under clinorotation. Book of Abstracts “36th Annual Meeting of ISGP”. June 7–12, 2015, Ljubljana, Slovenia, P. 139.

4. Švegždienė D., Losinska-Sičiūnienė R., Brykov V. Clinorotation effects on phototropic responses of leaves to ultraviolet-a and blue light. (Nature Research Centre, Lithuania, N.G. Kholodny Institute of Botany of NAS of Ukraine). 15th Ukrainian Conference on Space Research, August 24–28, 2015, Odesa, Ukraine. P. 34.

5. Kordyum E.L., Brykov V.O., Rueland E. Lipids in plant cell gravisensitivity. (N.G. Kholodny Institute of Botany of NAS of Ukraine , Institut d’Ecologie et des Sciences de l’Environnement de Paris). 15th Ukrainian Conference on Space Research, August 24–28, 2015, Odesa, Ukraine. P. 43.

6. Кордюм Є.Л., Бриков В.О., Козеко Л.Є. Клітинні та молекулярні аспекти пристосування рослин до умов мікрогравітації. 15th Ukrainian Conference on Space Research, August 24–28, 2015, Odesa, Ukraine. P. 44.

7. Бриков В.О. Сучасний стан уявлень про біоенергетику рослинних клітин в умовах мікрогравітації. 15th Ukrainian Conference on Space Research, August 24–28, 2015, Odesa, Ukraine. P. 119.

8. Недуха О.М., Воробйова Т.В., Котенко Т.Б. Вплив горизонтального кліноостаткування на локалізацію ca^{2+} -атфазу в клітинах коренів гороху. 15th Ukrainian Conference on Space Research, August 24–28, 2015, Odesa, Ukraine. P. 49.

9. Kordyum E., Nedukha O., Vorob’eva T., Grakhov V., Klymenko O., Zhupanov I. Plasmalemma lipid bilayer in pea seedlings is sensitive to clinorotation. ELGRA Biennial Symposium and General Assembly 2015, September 29 – October 1, Corfu, Greece. P. 78.