

ORIGINAL ARTICLE



On the Question of Epigenetic Mechanisms of Kariogenomic Winter Wheat in the Concept of Supramolecular Biochemistry

E.A. Ivanova

Ufa institute of Biology, Ufa Research Centre, Russian Academy of Sciences, Ufa, pr. Oktyabrya 69,450054, Ufa, Russia

*E-Mail: fiona_belobor@mail.ru

Received May 23, 2019

For the first time, experimental data on the epigenetic mechanisms of the Arg-X localization zones of protease processing of karyogenic hexaploid winter wheat are considered in the concept of supramolecular biochemistry, in terms of transforming super-protein components on the interface of supramolecular systems of interphase chromatin.

These data will be useful to those who are engaged in the development of logical-mathematical schemes of the theory and practice of biological specificity and can enter the database of the ontology of the growth and development stages of karyogenic plants

Key words: Arginine-protease processing, interphase, supramolecular biochemistry, karyogenomics, winter wheat

Углубленному подходу вышеуказанного направления темы послужили высказанные мысли выдающегося генетика мирового уровня Н.В. Вавилова: «...яровизация не только изменяет вегетационный период и сдвигает фазы развития растений, но меняет его технические качества. По-видимому, яровизация вызывает крупные биохимические различия. Надо незамедлительно приступить к исследованию химических изменений яровизированных сортов» (Вавилов, 1965). Эти слова для меня, как молитва, в поиске сущности этого природного явления.

Фундаментальные основы экспериментальной биохимии, в области биохимии клеточных ядер растений, были заложены в г. Уфе В.Г. Конаревым (Конарев, 1966), как продолжение научной школы Н.И. Вавилова (Конарев, 1991).

Одними из первых, в области разработок биохимической модели регуляции хроматина озимых и яровых форм пшениц, были украинские учёные (Лобов, Даскалюк, 1984).

Кариогеномика полигеномных внутриклеточных генных сетей

В настоящее время, с целью проникновения, в новую суть, глубинных особенностей познания объекта исследования, вводится термин «кариотип», уточняющий его геномную организацию и характеризующую систематическую единицу (рода), объединяющую группу видов кариологически однотипных (Ivanova, 2017). Такой подход к анализу, морфогенетических особенностей объекта исследований, необходим, чтобы учесть особенности установления стабильности возникшего кариотипа на молекулярном уровне. С этой позиции рассмотрение вопросов самоорганизации сложных генных сетей в полигеномных внутриклеточных системах переходит в разряд анализа супрамолекулярной биохимии.

Супрамолекулярная химия (Стид, Этвуд, 2007), особенно биологическая, в высшей степени становится междисциплинарной областью и приобретает статус супрамолекулярной науки. Понимание биологических процессов значительно

легче достигается с помощью модельных объектов, в которых клеточный уровень организации жизнедеятельности можно рассматривать с позиции самоорганизующихся структур, постоянно взаимодействующих друг с другом и окружающей средой.

Основная задача кариогеномики – создание методических основ в направлении изучения происхождения видов, их эволюции и сравнительной геномики, а также определения синтении (сцепление генов) хромосом в родственных геномах. Что касается соотношения структурной геномики и кариогеномики, то в настоящее время кариогеномика стала возможной только в результате широчайшего и целенаправленного использования методов молекулярной и структурной геномики. О протеомике, о её динамической регуляции и стабилизации в сложной системе динамики кариотипа, вообще нет никаких данных. Однако, протеомика это и есть суть изучения динамических закономерностей, в структурной устойчивости самоорганизации, и познания путей их эволюции. Именно направление науки, которое исследует особенности организации и эволюции «геномов», субгеномов в исходно полиплоидных ядрах предлагают называть «кариогеномикой» (Зеленин *и др.*, 2016).

Считают, что главной задачей XXI века является необходимость понять, как все компоненты клетки взаимодействуют в пространстве и времени, образуя сложные динамические, биологические системы. Пока, о молекулярной подвижности и внутриклеточной динамике образования временных составных структур внутри клетки, мало известно. Сложные физико-химические взаимодействия в клетке осуществляются на основе сильных (химических) и слабых (Ван-дерваальсовых, гидрофобных и так далее) взаимодействий. Эти взаимодействия всецело определяются свойствами внешних электронных оболочек молекул. Поэтому всё очевиднее становится необходимость понимания общей внутриклеточной полигеномной организации, её реализации в субклеточных органеллах при выполнении жизненных процессов

растительного организма. Эти знания входят в разряд комплексных проблем вопросов хранения, реализации и наследования генетической информации, и, несомненно, взаимосвязаны с хондриомом – совокупностью генома всех митохондрий клетки (Колесников, 2016).

Известно, что филогенетика работает на полногеномном анализе, включающим в себя транскриптомику и протеомику, по пространственно-временным фазам развития организма. Возникающие супраблочки в результате самосборки и самоорганизации ряда компонентов, могут быть способны к самокоррекции и адаптации. Эта особенность позволяет объяснить, почему большие многоцентровые белковые архитектуры образуются не из единственной длинной полипептидной цепи, а в результате ассоциации меньших по размеру протеиновых фрагментов (Финкельштейн, Птицин, 2005).

Кариогеномный объект и супрамолекулярная наука

В данной работе, объект исследования рассматривается в концепции супрамолекулярной науки, где в соответствии с информационной программой развития, работающей на основе принципов молекулярного распознавания, в результате спонтанной ассоциации, возникают специфически супрамолекулярные ансамбли, которые характеризуются определенной топологической организацией и проявлением свойств, зависящих от фазы ростового морфогенеза пшеницы. В этом отношении супрамолекулярная химия может рассматриваться как химическая или молекулярная информатика.

В последнее время остро проявился интерес к физико-химическим особенностям самоорганизующихся пространственно-временных гетерополимерных-супрамолекулярных ансамблей, в которых система компонентов флуктуационной динамики белковых поверхностных групп, является эволюционно отобранной для реализации морфогенетических процессов онтогенеза. Известно, что боковые группы аминокислотных остатков колеблются заметно сильнее, чем главная цепь.

Эволюция создавала химические соединения, исключительная организация которых обеспечивала выполнение наиболее сложных и точных задач (Финкельштейн, Птицин, 2005). В настоящее время, усовершенствуются методы конформационного анализа, позволяющие не только предсказывать, но и объяснять экспериментальные данные, находящиеся на стыке физики и биохимии, чтобы выйти на нужный уровень приближения к пониманию морфогенетических процессов онтогенетического развития организма.

В этом ракурсе методический прогресс сильно продвинул понимание молекулярно-генетической организации интерфазного ядра. Становится очевидным, что функциональная динамика доменной топологии интерфазного хроматина вовлечена в контроль регуляции различных взаимосвязанных процессов в определенных областях ядра. На основании этого было предположено, что один из механизмов, в супрадоменной реорганизации хроматиновой матрицы, может выполнять *Arg-X* протеазо-процессинг. Это предположение основывается на том, что хроматин ядра богат аргинином, и, из всех аминокислот, только он способен связываться с определенными пуриновыми и пиримидиновыми основаниями ДНК.

В концепции супрамолекулярной науки, где в соответствии с информационной программой развития, работающей на основе принципов молекулярного распознавания, в кариогеномном объекте исследования, возникают внутриядерные фазовые ансамбли, которые характеризуются определенной организацией на супермикроскопическом уровне, с проявлением супрамакроскопических свойств, характерных для определенной фазы развития растений. В этом отношении, супермолекулярная 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 и циклах инициации ростового морфогенеза растений.

В этом направлении было проведено рассмотрение кариогеномного анализа локализации *Arg-X* процессинга в топологически ассоциированных супраблоках гексаплоидной системы интерфазного хроматина в зрелых зародышах пшеницы адаптированных к холодному стрессу (Ivanova, 2017).

В данной работе экспериментальный подход к представленной проблеме, пока фокусируется только на динамике самоорганизации вегетативного периода интерфазных клеточных ядер при индукции ростового морфогенеза зрелых зародышей суперэлитных семян пшеницы (гексоплоидных, кариогеномных) (*Triticum aestivum* L.): сортов - яровой Артёмовки и выведенной из неё озимой Мироновской 808, полученных, в качестве модельного объекта исследований, из коллекции Всероссийского института растениеводства им. Н.И. Вавилова. Экспериментальная работа была проведена на основе разработанных ранее собственных патентов: 1) по оценке морфофизиологического состояния проклюнувшихся зрелых зародышей, 2) по выделению из них клеточных ядер и их: 3) супраструктурных ансамблей, а также, 4) негистоновых (Нгб) и гистоновых белков, в которых, 5) выявлена локализация *Arg-X* протеазо-процессинга и выделены: 6) методом аффинной хроматографии трипсиноподобные комплексы (ТПК) из Нгб и гистоновых белков (Ivanova, 2017).

Интерфазное ядро и его топологически ассоциированные ансамбли

Ядро гексаплоидной пшеницы (*Triticum aestivum* L.) состоит из 3-х гаплоидных наборов хромосом: A^U В D. Таким образом, это уже комплекс-совокупность «геномов», кариогеномика которого представлена тремя кариотипами, в каждом из которых по 7 хромосом. В пределах границ ядра, весь геном упакован таким способом, что его участки остаются доступными для динамического взаимодействия не только с ядерным микроокружением внутренних регулирующих факторов, но и возможностью осуществлять регуляторные антероградные и ретроградные взаимодействия с клеточными

органеллами, например, митохондриями. В соматическом ядре интерфазного хроматина самоорганизующиеся нити 42 хромосом развернуты и топологически ассоциированы в хромонемные блоки – супраструктуры, которые динамичны, не являются жестко закреплёнными и занимают различные территории.

Супраструктурные - топологически ассоциированные ансамбли компартментов интерфазной хроматиновой матрицы (в пространственно-временном интервале при индукции ростового морфогенеза: 0ч → 3ч → 6ч → 21-24ч) были выделены, в виде 4-х слоёв, с применением линейного и ступенчатого солевого градиента (Ivanova, 2017). Это супрермолекулярные - гетерополимерные структуры: нуклеоплазмы – лабильного хроматина (Нп), хроматина непрочно-- (Хр-I) и прочносвязанного (Хр-II) с ядерным матриксом (ЯМ) и собственно самого ЯМ. Состояние воздушно-сухого семени и зародыша (находящиеся в состоянии биологического покоя), условно принято 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, а затем надмолекулярные - супрамолекулярные ансамбли представляющие собой гетерополимерные структуры, состоящие из белков, ДНК, РНК, гексоз.

При реассоциации ДНК ведет себя – как многокомпонентная система. О функциональном значении палиндромов в организации ДНК высказываются многочисленные предположения. Последовательности сателлитной ДНК расположены в гетерохроматиновых областях хромосом. Одной из характерных особенностей этих зон является их способность к слиянию гетерохроматиновых зон гомологичных и негомологичных хромосом с образованием центромеров. До периода установления определенной стабильности возникшего кариотипа, в каждом из исходных предковых геномов, происходили множественные изменения и только 10% генов из тех, что содержались в каждом исходном предковом геноме, стали активны, поскольку большинство

паралогических генов в гомеологах утрачиваются или инактивируются (Зеленин, 2003; Зеленин *и др.* 2016). Логическим развитием функциональной «геномики» стала протеомика. Эта новая область науки, изучающая протеом, под которым подразумевают полный набор белков в клетке (в нашем случае: это полный набор белков в пространственно-временной тотальной организации кариогеномного интерфазного ядра) в конкретный момент. Поэтому в качестве возможного механизма архитектурной топологической реорганизации кариогеномной хроматиновой матрицы решено обратить внимание на особенности *Arg-X* протео-процессинга в связи с пространственно-временным состоянием клеточных ядер зрелых зародышей пшеницы в период индукции ростового морфогенеза до формирования в проклюнувшемся зародыше сигнализационного «языка» апикальных меристем побега и корня, обеспечивающих пластичность, координационный и одновременный рост различных тканей. ДНК растений относится к нуклеиновым кислотам АТ-типа, содержащей много рибосомных генов. Считают, что участки, обогащенные АТ-парами, топологически связаны с гомологичными повторами, то есть входят в их состав и локализируются рядом. В морфогенетических процессах этот аспект приобретает рассмотрение на биохимическом уровне супрамолекулярных ансамблей, то есть, «химии запрограммированных несущих информацию молекул» (Лен, 1998). Такой ракурс взгляда необходим для биоинформационной науки, которая с целью понимания базовой основы закономерностей взаимосвязанного внутриклеточного развития разрабатывает эффективные информационно-компьютерные технологии, исходя из того, что в основе признака устойчивости лежит взаимодействующая генная сеть – координированно экспрессирующихся генов (Оловников, 1999; Гунбин *и др.*, 2008; Омелянчук *и др.*, 2009). В ряде таких работ (Гунбин *и др.*, 2008; Разин *и др.*, 2017) виртуально, выделен их блочно-модульный характер, где блоки генных сетей образуют иерархическую структуру, в которой включение порядка и времени, соответствуют формированию морфофизиологических компартов. Связь

между блоками генных сетей осуществляют сигнальные молекулы. В этом случае, особый интерес представляет аргинин (Разин *и др.*, 2017).

Сигнальные молекулы - аргинин в эпигенохимии

Аргинин – незаменимая аминокислота, входящая в состав белковых молекул генома эу- и прокариотов. Он входит в состав сократительных белков, большей частью вовлекается в их поверхностный слой. Возможно, последующее сжатие и растяжение, экранирование гидрофобных и гидрофильных поверхностей белков способствует образованию мультикомпонентных систем (супрамолекулярных ансамблей). Гуанидиновая группа аргинина протонируется, стабилизируется резонансом и представляет собой центр связывания фосфатных (энерго-механизм субстратного фосфорилирования), ацетильных групп, а также является удобной мишенью, по которой происходят биоспецифические модификации. К тому же аргинин-содержащие пептиды легко иммобилизируются. Всё это свидетельствует о полифункциональности белка, в составе которого есть аргинин. Несомненно, особый интерес представляют белки богатые аргинином в составе хроматина клеточного ядра. Один из них H4 эволюционно консервативен и представлен высоко-консервативными последовательностями из коротких пептидов, в которых почти везде присутствует аргинин. Значение этих последовательностей ещё предстоит расшифровать. Так как, аргининбогатые гистоны по аминокислотной последовательности – эволюционно стабильные белки, то это свидетельствует о их важной роли в сохранении и реализации генетической информации у эукариот.

Трудности изучения гексоплоидного 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 изучения эпигенетической адаптации организмов к окружающей среде, применять термин «эпигенохимия» (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).

В предложенном эксперименте - яровизация пшеницы, в её филогенетическом статусе - озимости, выполняет роль наиболее яркого модельного объекта для исследования эпигенетического адаптивного процесса ускоряющего цветение растений, которое является результатом раннего вегетативно-длительного периода (запоминания) действия пониженной температуры, что и приводит к перепрограммированию экспрессии генов, контролирующих цветение. Таким образом, регулярно повторяющиеся факторы окружающей среды и ответные реакции организма на них запоминаются и эпигенетически перепрограммируются в виде адаптивного ответа. Другими словами, формирование адаптивного ответа у всех организмов осуществляется через эпигенетические изменения с целью образования фенотипов (эпигеномов), наиболее приспособленных к условиям окружающей среды. Это наводит мысль о том, что развертываемые формы предсуществуют в готовом матричном плане биологии развития организма (Бурьянов, 2015; Яблоков, 2017).

В этом направлении продолжается глубокий интерес к работе (Том, 2002) «Структурная устойчивость и морфогенез». Современная биология всё чаще стала уделять внимание динамическим пространственно-временным переходам топологических процессов супермолекул в гетерополимерных супрамолекулярных ансамблях, с позиции запрограммированной самоорганизационной информации, основанной на нековалентных, межмолекулярных взаимодействиях (Лен, 1998).

Кариогеномная экспериментальная оценка вегетативного периода и фазы развития озимой пшеницы

Таким образом, результаты экспериментального исследования кариогеномных механизмов

реализации эпигенетической информации выявило зоны локализации *Arg-X* протеазо-процессинга, главным образом, в Нгб и коровых гистонах H2A+H2B ядерных супермолекул в мезокотиле вегетативного периода ростового морфогенеза зрелых зародышей пшеницы адаптированной к холодному стрессу. Возможно, это зоны запоминания как выжить в неблагоприятных условиях окружающей среды. То есть, именно в тканях мезокотила в период инициации ростовых процессов, за счет растяжения клеток, меняется внутрисуточный ритм *Arg-X* протеазо-активных зон, при динамической реорганизации топологически ассоциированных блоков интерфазной хроматиновой матрицы. Физиологически, индукция ростового морфогенеза в мезокотиле, этого периода, представляет собой, изменение предшествующей формы, вследствие возникновения механического натяжения плавно деформируемых клеточных пластов под влиянием факторов окружающей среды. Кроме того, возможно, инициация *Arg-X* протеазо-активности в топологически ассоциированных блоках интерфазной хроматиновой матрицы мезокотилей в период активного водопоглощения: 3ч → 6ч, характеризуются формированием сигнального внутриядерного навигаторного форпоста, не только в связи конформационной реконструкцией интерфазной матрицы, но и появлением сигнальных коротких *Arg-X* пептидов влияющих на антерогенную регуляцию.

CONCLUSION

В данной работе рассматривается простая, то есть, резко упрощенная, по сравнению с реальностью модель и делаются простые прикидочные оценки. В базе данных хранится большое количество информации. Однако они не всегда дают полноценный сравнительный анализ. В связи с этим интересны разработки более гибких систем, основанных на моделировании непрерывных сигналов. Мы надеемся, что экспериментальные данные биологов-биохимиков могут быть интересны физико-химикам, математикам.

Следует также учесть, что кариогеномика у растений, в представленном аспекте исследования,

это интеграция поколений в переходе к супрамолекулярной и когнитивной наукам.

ACKNOWLEDGMENTS

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.

Выражаю благодарность д.б.н. Р.Н. Чураеву за то, что принял меня в свою лабораторию в качестве биолога-биохимика; а также современному и.о. руководителю группы математической и молекулярной генетики (ММГ) к.б.н. А.В. Галимзянову, набирающему опыт в работе; и конечно директору института биологии д.б.н. В.Б. Мартыненко, сохранивший при дирекции группу ММГ, и при этом дающий возможность экспериментально продумывать сложнейшую морфо-онтогенетическую биохимию в супрамолекулярной и когнитивной науках. Особо благодарю мою доченьку, которая помогла мне сделать рисунки к статье (Ivanova E.A. 2017)

REFERENCES

- Бурьянов Я.И. (2015) Адаптивная эпигенохимия и эпигенетика. *Биохимия*, **80(9)**, 1376-1390.
- Вавилов Н.И. (1965) Избранные труды. – М.-Л.: Наука, Т. 5. – С. 312-313.
- Гунбин К.В., Суслов В.В., Колчанов Н.А. (2008) Молекулярно-генетические системы развития: динамика функционирования и молекулярная эволюция. *Биохимия*, **73(2)**, 270-282.
- Зеленин А.В. (2003) Геном растений. *Вестник РАН*, **73(9)**, 797-806.
- Зеленин А.В., Родионов А.В., Большова Н.Л., Бадаева Е. Д., Муравенко О.В. (2016) Истоки «генома»: происхождение и эволюция термина. *Молекулярная биология*, **50(4)**, 611-620.
- Колесников А.А. (2016) Митохондриальный геном. *Нуклеоид. Биохимия*, **81**, 1322-1321.
- Конарев В.Г. (1966) Цитохимия и гистохимия растений. – М.: Высшая школа. — 319 с.
- Конарев В.Г. (1991) Н.И. Вавилов и проблемы вида в прикладной ботанике, генетике и селекции. – М.: Агропромиздат, – 47 с.
- Лен Ж.-М. (1998) Супрамолекулярная химия. – Новосибирск: Наука, – 333 с.
- Лобов В.П., Даскалюк А.П. (1984) Сравнительное исследование ДНК озимых и яровых форм пшеницы. *Докл. АН СССР*. **275(1)**, 218-221.
- Оловников А.М. (1999) Заметки о «принтомерном» механизме клеточной памяти и ионной регуляции конфигурации хроматина. *Биохимия*. **64(12)**, 1689-1698.
- Омельянчук Н.А., Миронова В.В., Колчанов Н.А. (2009) Генетика развития растений: интеграция информации из различных наблюдений и экспериментов в базах данных. *Генетика*, **45(11)**, 1476-1492.
- Разин С.В., Гаврилов А.А., Кос П., Ульянов С.В. (2017) Самоорганизация хроматиновой фибриллы в топологически-ассоциированные домены. *Биоорганическая химия*, **43(2)**, 115-123.
- Стид Дж.В., Этвуд Дж. Л. (2007) Супрамолекулярная химия (Супрамолекулярная биохимия). – М.: ИКЦ «Академкнига». – Т. 2. 416 с.
- Том Р. (2002). Структурная устойчивость и морфогенез.- М.: Логос, - 280 с.
- Финкельштейн А.В., Птицин О.Б. (2005) Физика белка. Москва, 460 с.
- Яблоков А.В. (2017) О механизме эволюции на экосистемном уровне организации жизни. *Журнал общей биологии*, **78(2)**, 74-80.
- Ivanova E.A. (2017) 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*. **13(4)**, 65-73.