

Analysis of the Proteomics of Chromatin Suprastructures as Areas of Replication (Origins) and Perception of Signal and Stress Systems in the Development of Spring Wheat

Ivanova E.A.

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 June 6, 2020

Based on the experimental data obtained, the issues of proteomic dynamics of the localization of barrier elements directly between the transcriptionally active and inactive zones of total interphase chromatin, as well as the initiation of replication (origin) at the level of individual sites of signal and stress systems perception from the perspective of epigenetics are discussed.

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 kariogenic plants

Key words: Proteomics, Interphase core topology, Supramolecular biochemistry, Karyogenomics, wheat, signaling systems

Расшифровка генетических основ адаптации организма или популяции, воспринимающей и преобразующей стресс-сигналы - фундаментальная тема эволюционной экологии, прокладывающая путь в понимании и реализации прикладных задач управления устойчивостью растений. В последнее время, молекулярно-биологический анализ морфогенеза (Конарев, 1998), все активнее рассматривается с позиции структурной устойчивости (Том, 2002). Что касается концепции супрамолекулярного анализа (Лен, 1998; Сид, Этвуд, 2007), то такой подход позволяет не только предсказывать, но и объяснять экспериментальные данные, находящиеся на стыке физики и биохимии, чтобы выйти на нужный уровень приближения к пониманию фенотипической пластичности не только морфогенетических процессов онтогенетического развития организма, но и взаимодействия с окружающей средой (Ivanova, 2017; 2019).

Ранее опубликованные работы по анализу эпигенетических механизмов (Иванова *и др.*, 2014; Ivanova *et al.*, 2015), на примере выведенного сорта озимой пшеницы Мироновской 808, показали, согласно литературным данным (Иванова *и др.*, 2014), насколько долгим и сложным был этот путь, при выборе донорно-матричного ярового сорта, который способствовал получению озимого «шедевра мировой селекции Мироновской 808». В этом отношении, был интерес, более подробно проанализировать динамику протеомики архитектурной организации интерфазного клеточного ядра яровой пшеницы сорта Артемовки, фенотипическая пластичность которого позволила селекционерам вывести озимый сорт. «Протеомика» комплементарна геномике, так как дает дополнительную информацию и является прямым свидетельством или отражением генетической экспрессии и её регуляции в разных тканях или клетках в пространственно-временном аспекте.

Целью данной работы был анализ динамики ядерного протеома топологически ассоциированных зон тотального хроматина, в целых зародышах

после их проклёвывания во временном интервале: 24ч, 30ч, 36ч и дифференцированных органах (колеоптиль, мезокотиль, корень) растущего проростка во временном интервале (42ч, 48ч), как возможных конформационно-локальных зон, воспринимающих и преобразующих стресс сигналы окружающей среды.

MATERIALS AND METHODS

В данной работе в качестве объекта исследования взяты семена суперэлита пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Артемовка (*liform* – яровая; *SUBTAXA* – *lutescens*; *ORIGIN_COUNTR* – Украина), из которой по методу (Ремесло, 1964) был выведен озимый сорт Мироновской 808. Используемые для эксперимента семена Артемовки получены из коллекции Всероссийского института растениеводства им. Н.И. Вавилова.

Весь экспериментальный объем работы (схема 1) представлен в виде таблиц 1-3 и схем 2-4. Методические особенности работы подробно изложены в ссылках на патенты в статье (Иванова *и др.*, 2014). Относительно представленных в таблицах 1-3 нулевых показателей, есть мнение, что количественное выявление протеома в супраструктурах хроматиновой фибриллы находится за пределами чувствительности прибора. С проявлением такой ситуации мы столкнулись ранее (Иванова *и др.*, 1989), когда определяли протеолитическую активность белка, не выявив его количественного содержания в пробе. Вследствие этого, подобная особенность фракции была отнесена к неканонической функции РНК, небольшое содержание которой было определено в пробе, однако не исключено, что белок был замаскирован РНК (Иванова *и др.*, 1989).

RESULTS

Представленные пространственно-временные показатели динамики, состояния клеточных ядер целых зародышей (табл. 1) и дифференцированных органов растущего побега (табл. 2-3), указывают на организацию физиолого-биохимических механизмов отдельных супраструктур и их супермолекулярной

протеомии при реализации роста и развития проростков. Для лучшего восприятия данных таблиц 1-3, они оформлены в виде схем (2-4), которые показывают особенности распределения негистоновых и гистоновых суперструктур, на поверхности раздела хроматиновых фибрилл супраструктурных блоков, на уровне целых ядер в пространственно-временном периоде зародышей (схема 2) и в отдельных инициированных к росту органах проростка (схема 3-4). Целостность клеточного ядра представлена следующей последовательностью выделения супраструктур: Нп - жидкокристаллический, лабильный хроматин; ХрI - эухроматин, наиболее активный хроматин; ХрII - гетеро-компактный, менее активный хроматин; ЯМ – ядерный матрикс, поддерживающий пространственно-временную топологию ядра, на пути движения к инициации органоспецифического роста проростка: в период подготовки к инициации (схема 2) и детерминированного, координированно-закономерного роста проростка (схема 3-4).

Из представленной табл. 1 и схемы (2) (24ч) видно, что в супраблоче-Нп на поверхности раздела хроматиновой фибриллы, по соотношению суперструктур протеома, первую позицию занимают коровые обогащенные аргинином гистоны-(Н3+Н4)'=Нгб, которые взаимосвязаны с (Н3+Н4)'=Н1 эухроматина -ХрI, перешедшее во взаимосвязь с Нгб=(Н2А+Н2В) гетерохроматина-ХрII и топологически закрепившимся, с помощью гистонового кора (Н2А+Н2В) ядерного матрикса-ЯМ. Из табл.1 и схемы (2) (30ч) видно, что поверхность структуры лабильного хроматина-Нп также представлена (Н3+Н4)', но во взаимосвязи с Нгб эухроматина-ХрI и Нгб=(Н2А+Н2В) гетерохроматина-ХрII, топологически заякоренного линкерным гистоном-Н1 на ЯМ.

Из табл.1 и схемы (2) (36ч) видно, что поверхность раздела лабильного хроматина-Нп и гетерохроматина-ХрII в основном представлены – Нгб; эухроматин-ХрI и ЯМ представлены -Н1.

Табл.2 и схема (3) (42ч) показывают состояние инициации ростовых процессов в

дифференцированных, органически взаимосвязанных между собой, органах проростка на уровне клеточных ядер. В этом случае, супраструктурная организация тотального хроматина мезокотилия (42ч) характеризуется следующей организацией суперструктур протеома на поверхности раздела: в Нп и ХрI топологической ориентацией коровых гистонов-(Н3+Н4)', а в ХрII и ЯМ соответственно Н1 и Нгб.

Вся представленная органообразующая система мезокотилия-(42ч), взаимосвязанная с ростом морфобиологических сигнальных систем: колеоптиля и корня (42ч), характеризуется в колеоптиле-(42ч): позиционированием на поверхности раздела Нп- гистоном-Н1, взаимосвязанным с коровым-гистоном-(Н2А+Н2В)-ХрI, и коровым-гистоном-(Н3+Н4)' -ХрII, топологически соединенными с (Н2А+Н2В) на ЯМ. Корневая система(42ч), представлена на поверхности раздела: Нп- гистоном-Н1, во взаимосвязи с (Н2А+Н2В)-ХрI, который взаимосвязан с Н1-ХрII, топологически соединенным при совместном участии Нгб=Н1 на ЯМ.

Табл.3 и схема 4 (48ч) показывают, что в процессе детерминации ростового морфогенеза отдельных органов проростка в клеточных ядрах мезокотилия-(48ч) на поверхности раздела супраструктур -Нп происходит позиционирование - (Н2А+Н2В) во взаимосвязи с Нгб=(Н3+Н4)'-ХрI и (Н3+Н4)'-ХрII топологически во взаимосвязи с (Н3+Н4)' на ЯМ.

Ростовые процессы сигнальной системы: колеоптиля (48ч) и корня (48ч) характеризуются тем, что в колеоптиле-(48ч) на поверхности раздела Нп и ХрI соответственно позиционируют Н3+Н4)' и Нгб, которые взаимосвязаны, с ХрII и ЯМ, соответственно (Н2А+Н2В) и Н1=Нгб. Корневая система (48ч) на поверхности раздела Нп и ХрI соответственно представлена гистоном-Н1 и (Н2А+Н2В)=Н1=(Н3+Н4)', которые соответственно взаимосвязаны с (Н3+Н4)'-ХрII и (Н2А+Н2В) -ЯМ.

Схема 1. Биохимический анализ клеточных ядер индуцированных к органоспецифическому, координированно-закономерному, росту прораставших зародышей пшеницы

1.1. Возраст прораставших зародышей, ч				
24	30	36	42	органы
Целый зародыш			Колеоптиль Мезокотиль Корень	
1.2. Выделение клеточных ядер				
1.3. Выделение супраструктур при повышении ионной силы солевого градиента, способствующего ослаблению электростатического взаимодействия				
0,14 M NaCl	0,35 M NaCl		2M NaCl	6M GuHCl
Нуклеоплазма, Лабильный хроматин (Hп)	«Эу»хроматин, непрочносвязанный с ЯМ (ХрI)		«Гетеро»хроматин, прочносвязанный с ЯМ (Хр II)	Ядерный материкс (ЯМ)
1.4. Градиентное элюирование GuHCl-гуанидингидрохлоридом, на поверхности раздела негистоновых и гистоновых - супер блоков из супраструктур, методом ионнообменной хроматографии на IRC-50 (Heidelberg), подготовленной к работе по описанию [Иванова и др.,1975]				
Ступенчатые концентрации - GuHCl, %				
6,0 - негистоновые "кислые" белки - (Hгб) 8,9 - лизинбогатый, линкерный гистон - (H1) 10,6 - умеренно-лизинбогатые гистоны - (H2A+H2B) 13,0 - обогащенные аргинином гистоны- (H3+H4) 40,0 - аргинин-богатые гистоны - (H3+H4)''				

Схема 2. Пространственно-временная реорганизация **супер**структур- протеома на поверхности раздела супраструктур интерфазного хроматина клеточных ядер

Супраструктуры клеточных ядер	Временные интервалы	Реорганизация гистоновых и негистоновых белков в процессе прорастания зародыша пшеницы
Hп : ХрI: ХрII: ЯМ :	24ч- 24ч- 24ч- 24ч-	$(H3+H4)' \geq Hгб > (H2A+H2B) > H1$ $(H3+H4)' \geq H1 > Hгб \geq (H2A+H2B)$ $Hгб = (H2A+H2B) > H1 > \dots$ $(H2A+H2B) > Hгб > H1 > \dots$
Hп : ХрI: ХрII: ЯМ :	30ч- 30ч- 30ч- 30ч-	$(H3+H4)' > (H2A+H2B) > H1 > Hгб$ $Hгб > \dots$ $Hгб = (H2A+H2B) > (H3+H4)' > H1$ $H1 > Hгб = (H2A+H2B) \geq (H3+H4)'$
Hп : ХрI: ХрII: ЯМ :	36ч - 36ч - 36ч - 36ч -	$Hгб > \dots$ $H1 > Hгб > \dots$ $Hгб > \dots$ $H1 > Hгб > \dots$

Схема 3. Реорганизация суперструктур-протеома на поверхности раздела супраструктур хроматина клеточных ядер при инициации органоспецифического ростового морфогенеза

Временной период супраструктур клеточного ядра	Органогенез	Реорганизация гистоновых и негистоновых белков в дифференцированных органах проростка пшеницы
Нп : 42 ч.	колеоптиль-мезокотиль-корень -	$H1 > (H3+H4)' > Hгб > \dots$ $(H3+H4)'' > (H2A+H2B) > Hгб > H1$ $H1 > Hгб > \dots$
ХрI: 42 ч.	колеоптиль-мезокотиль-корень -	$(H2A+H2B) > H1 > Hгб > \dots$ $(H3+H4)'' > H1 \geq Hгб > (H2A+H2B)$ $(H2A+H2B) > Hгб > \dots$
ХрII: 42 ч.	колеоптиль-мезокотиль-корень -	$(H3+H4)' > Hгб > \dots$ $H1 > (H3+H4)' > Hгб > \dots$ $H1 > (H2A+H2B) > Hгб > \dots$
ЯМ 42 ч.	колеоптиль-мезокотиль-корень -	$(H2A+H2B) > Hгб > (H3+H4)' > H1$ $Hгб > \dots$ $Hгб \geq H1 \dots$

Схема 4. Реорганизация суперструктур-протеома на поверхности раздела супраструктур хроматина в процессе дифференцированного ростового морфогенеза

Временной период супраструктур клеточного ядра	Органогенез	Реорганизация гистоновых и негистоновых белков в дифференцированных органах проростка пшеницы.
Нп : 48 ч.	колеоптиль-мезокотиль-корень -	$(H3+H4)' > (H2A+H2B) > H1 > Hгб$ $(H2A+H2B) > H1 > Hгб > \dots$ $H1 > Hгб > (H3+H4)' > (H2A+H2B)$
ХрI: 48 ч.	колеоптиль-мезокотиль-корень -	$Hгб > H1 > \dots$ $Hгб \geq (H3+H4)' > (H2A+H2B) > H1$ $(H2A+H2B) \geq H1 \geq (H3+H4)' > Hгб$
ХрII: 48 ч.	колеоптиль-мезокотиль-корень -	$(H2A+H2B) > H1 > Hгб > \dots$ $(H3+H4)' > Hгб > H1 > \dots$ $(H3+H4)' > Hгб > (H2A+H2B) > H1$
ЯМ 48 ч.	колеоптиль-мезокотиль-корень -	$H1 \geq Hгб > \dots$ $(H3+H4)' > H1 > Hгб > \dots$ $(H2A+H2B) > (H3+H4)' \geq Hгб > H1$

Таблица 1. Динамика содержания ядерного протеома в зародышах пшеницы после их проклеивания, %

Возраст зародыша, ч	Супраблочные клеточного ядра	Элюирование ядерных белков градиентным буфером Gu^*HCl , %					
		6	8,9	10,6	13'	40''	
		Hгб	HI	H2A+H2B	H3+H4		
Целый зародыш	24	Н п	42,3	27	32,5	48,2	0
		ХрI	30	51	29,7	51,8	0
		ХрII	18,4	15,1	18,2	0	0
		Я М	9,3	6,9	19,6	0	0
	30	Н п	13,1	23,9	25,3	41,6	0
		ХрI	10,5	0	0	0	0
		ХрII	43,8	22,6	43,2	28,4	0
		Я М	32,6	53,5	31,5	30	0
	36	Н п	28,9	0	0	0	0
		ХрI	20	55,6	0	0	0
		ХрII	16,9	0	0	0	0
		Я М	34,2	44,4	0	0	0

Таблица 2. Содержание ядерного протеома при инициации органоспецифического дифференцированно-го роста проростков пшеницы, %

Возраст проростка, ч	Органогез	Супраструктуры ядра	Элюирование ядерных белков градиентным буфером Gu^*HCl , %				
			6	8,9	10,6	13'	40''
			Hгб	HI	H2A+H2B	H3+H4	
42	Колеоптиль	Н п	27	51,9	0	38,6	0
		ХрI	22,4	27	55,6	0	0
		ХрII	22,8	0	0	36,7	0
		Я М	27,8	21,1	44,4	24,7	0
	Мезокотиль	Н п	46,1	34,6	76,6	37,3	60,3
		ХрI	32,3	36,6	23,4	45,5	39,7
		ХрII	11,9	28,8	0	17,2	0
		Я М	9,7	0	0	0	0
	Корень	Н п	18,9	26,8	0	0	0
		ХрI	31,8	0	61	0	0
		ХрII	19,4	45	39	0	0
		Я М	29,9	28,2	0	0	0

Таблица 3. Содержание ядерного протеома в процессе органоспецифического дифференцированного роста проростков пшеницы, %

Возраст проростка, ч	Органогез	Супраструктуры ядра	Элюирование ядерных белков градиентным буфером Gu^*HCl , %				
			6	8,9	10,6	13'	40''
			Hгб	HI	H2A+H2B	H3+H4	
48	Колеоптиль	Н п	14	17,6	38,9	100	0
		ХрI	48,5	19,2	0	0	0
		ХрII	23,8	48,9	61,1	0	0
		Я М	13,7	14,3	0	0	0
	Мезокотиль	Н п	16,7	34,7	62,5	0	0
		ХрI	41,8	27,4	37,5	40,1	0
		ХрII	29,6	21,3	0	35,6	0
		Я М	11,9	16,6	0	24,3	0
	Корень	Н п	31,3	42,4	19,1	20,4	0
		ХрI	14	18,3	19,1	17,5	0
		ХрII	33,3	19,2	23	40	0
		Я М	21,4	20,1	38,8	22,1	0

DISCUSSION

Расшифровка молекулярно-генетических основ адаптации организма или популяции остаётся фундаментальной темой в поисках подходов к их анализу и знанию локальных стресс адаптаций в понимании пути от генома, генотипа к фенотипу (Салменкова, 2013). Эти знания в настоящее время фокусируются в рамках новой дисциплины – интегративной биологии, которая занимается исследованием или модулированием генома в ответ на воздействие окружающей среды. Литературный анализ показывает, что имеются морфологические ограничения и эпигенетические воздействия на эволюционно выработанную стабильность механизмов хромосомных территорий и их реорганизационную пластичность (Schubert, Shaw, 2011). То есть, с позиции биоинформатики можно считать, что донорные яровые растения сорта Артемовки, последовательно-долгосрочно отобранные, морфологически выравненные, представляют собой молекулярно-генетическую перфокарту, геномно-протеомной информации, зон стресс-системной пластичности, приведшей к формированию и адаптации сорта озимой пшеницы под названием- Мироновской 808.

Рассмотрение структурных переходов хроматиновой матрицы растений с позиции доменов, имеющих разную степень кампактизации (лабильный, эу-, гетеро- хроматин) имеют давнюю историю (Конарев, 1966, 1998). Однако в настоящее время, ученых интересует, как формируются на тотальной интерфазной хроматиновой матрице, непосредственно друг от друга транскрипционно активные и неактивные зоны, при участии барьерных элементов отделяющих их друг от друга. Считают, что этот процесс обеспечивается не результатом первичной нуклеотидной последовательности, а особенностями вторичной структуры ДНК (Шабарина, Глазков, 2013). С этой позиции, ученые всё больше начинают присматриваться, что же происходит внутри нуклеосомного кора, а также и на поверхности его сближения с ДНК в процессах развития и формирования стресс-сигнальных систем

(Tropberger, Schneider, 2013). То есть, рассматривается регуляция хроматина с позиции новой идеи – «функциональности в хроматин-зависимых процессах», которые базируются на боковой поверхности глобулярного октамера всех четырёх коровых гистонов: $2(H2A+H2B)2(H3+H4)$, совместно образующих скаффелд гистонового октамера, вокруг которого обёрнута ДНК. В этом ракурсе рассматриваются исследовательские работы по биоинформационному анализу топологии белковых сетей, поиску статистик, наиболее адекватно отвечающих запросам экспериментальных биологов и получивших их подтверждение (Булгаков, Цицашвили, 2013). Привлекают также внимание работы в области перспектив динамического регулирования хроматина с помощью одной молекулы (Fierz, 2015).

Вопросы, архитектурной реорганизации и самоорганизации генетических гетерополимерных надмолекулярных структур клеточного ядра, в настоящее время, входят в ранг рассмотрения и изучения, также нового направления науки – супрамолекулярной биохимии (Лен, 1998, Сид, Этвуд, 2007). Продемонстрировано, что геном разделяется на относительно независимые топологически ассоциированные домены (ТАДы) (Разин, 2018; Разин, Гаврилов, 2018; Разин и др., 2017), которые ограничивают сферу действия регуляторных элементов, одновременно являясь регуляторными доменами генома. Исследование формирования доменов продемонстрировало, что они направляются простыми физическими законами и обусловлено межнуклеосомными контактами в неактивном хроматине. Возникает вопрос: какова организация протеомного блока в качестве барьерных элементов между лабильным, эу- и гетерохроматином. С этой позиции рассматривают глобулярные домены-коры: $2(H2A+H2B)+2(H3+H4)$ на уровне их связи с ДНК с позиции неструктурированных хвостов выступающих из нуклеосомы, как боковой поверхности сигнальной системы, в процессе развития организма. То есть, на боковой наружной поверхности глобулярного октамера, образуется сильно положительно

заряженный скаффелд, находящийся в контакте с отрицательно заряженным остовом ДНК. Эти работы находятся в ракурсе внимания биоинформационного анализа эволюции топологии боковых сетей (Финкельштейн, Птицин, 2005), а также рассмотрения перспектив регулирования тотального хроматина в процессе взаимодействия с факторами окружающей среды.

Чтобы разобраться, каким образом происходит самоорганизация протеома хроматиновых фибрилл тотального интерфазного хроматина, выбран способ анализа разделения генома на относительно независимые блоки, с применением обычных методов свойственных для белковой химии. То есть, интерфазное ядро представлено в виде 4х разделённых поверхностных зон, представляющих собой супрамолекулярные гетерополимерные структуры: Нп, ХрI, ХрII, ЯМ, из которых выделены поверхностные протеомные супермолекулярные блоки, представленные 5-тью блоками ядерного протеома: Нгб; Н1; (Н2А+Н2В), (Н3+Н4)', (Н3+Н4)".

В данном контексте рассмотрена локализация и динамика распределения протеомных суперблоков в супрамолекулярных гетерополимерных структурах в течение физиологических особенностей целого зародыша развивающегося в сторону органоспецифического, координированно-закономерного роста проростка (схема 2), а также в энергетически активных периодах мезокотилия, взаимосвязанного с инициацией роста и развития сигнальных систем колеоптиля и корня (схемы 3,4).

На схеме 2 показано, что проклюнувшийся зародыш (24ч), в котором физиолого-ростовые процессы происходят, как за счёт растяжения клеток, так и на глубоком уровне отдельных сайтов инициации репликации (ориджинов); характеризуются тем, что на поверхности раздела топологически ассоциированных зон позиционируют следующие взаимосвязанные супермолекулярные блоки: $(Н3+Н4)'=Нгб-[Нп] \rightarrow (Н3+Н4)'=Н1-[ХрI] \rightarrow Нгб=(Н2А+Н2В)-[ХрII] \rightarrow (Н2А+Н2В)-[ЯМ]$. То есть, на уровне клеточного ядра на поверхности раздела интерфазной хроматиновой матрицы-(24ч) находится коровый октамер $2(Н2А+Н2В)2(Н3+Н4)$ с

неструктурированными хвостами при взаимосвязи с $Нгб > Н1$.

Следующий период (30ч), на уровне клеточного ядра, соответственно характеризуется сохранением первой поверхностной позиции коровых гистонов $(Н3+Н4)'-[Нп] \rightarrow$ и $Нгб=(Н2А+Н2В)-[ХрII]$.

Физиологические особенности проклюнувшегося проростка (36ч) характеризуются усилением ростовых процессов за счет деления клеток и, по-видимому, включения регуляции репликации на уровне протяженных хроматиновых доменов. Протеомная поверхность раздела топологически ассоциированных зон тотального интерфазного хроматина представляет собой: соответственно, где в основном позиционируют $Нгб-[Нп] \rightarrow Н1-[ХрI] \rightarrow Нгб-[ХрII] \rightarrow Н1-[ЯМ]$.

Рассматривая экспериментальные данные (схема 2) в ракурсе информации (Разин, 2018, Разин, Гаврилов, 2018, Разин и др., 2017) возможных барьеров, отделяющих геном-активные зоны от неактивных, с позиции особенностей формирования ТАДов, можно предположить, что в супраструктурах (24ч-30ч) на поверхности раздела $(Н3+Н4)'-[Нп] \rightarrow$ и $Нгб=(Н2А+Н2В)-[ХрII]$, имеют место межнуклеосомные контакты типичные для ТАДов граничных участков. Возможно, они выступают как главный двигатель неактивных участков хроматиновой матрицы.

В случае (30ч)- $Нгб-[ХрI]$, возможно, имеет место самоорганизация хроматиновой фибриллы за счет активности HMG-белков взаимодействующих с ДНК или образования белок-белковых комплексов. Известно, что HMG – хромосомные белки выделяются экстракцией 0.35 М NaCl и представляют собой структурные нуклеосомные белки, активно транскрибируемых генов (Spicer, 1984; Иванова, Ахметов, 1987). Вероятно, в период ХрI (30ч) имеет место наличие свободных от нуклеосом участков или инсерции коротких участков активного хроматина в неактивную область. Экспериментально фракцию хроматина (0.35 М NaCl) связывают с формированием «30-нм фибриллы» (Ivanova et al., 2015). При высоких концентрациях экстракции хроматина (2М NaCl, 6М

GuHCl) возможны взаимодействия межфибриллярных контактов: $\text{XpII} \rightarrow \text{ЯМ}$ (24ч → 30ч). Пространственно-временной период физиологического развития зародыша (24ч → 30ч), представленный на схеме 2, характеризуется подготовкой к инициации репликации S-фазы клеточного цикла. По информации литературного обзора (Колесникова, 2013), этот период находится под эпигенетическим контролем и имеет, как правило, ранние активированные ориджины.

Физиологические особенности проростка (36ч) характеризуются переходным периодом от условий гетеротрофного обмена к формированию органогенеза в условиях автотрофного питания. Повидимому, это пространственно-временной период (36ч) репликационных процессов поздней S-фазы клеточного цикла, где обычно активируются ориджины молчащего хроматина (Колесникова, 2013), при включении в работу экспрессирующихся генов «домашнего хозяйства», сосредоточенные в интер-ТАДах. В этот период (36ч) на поверхности раздела происходит четкое чередование супермолекулярного протеома: $\text{Hгб-[Hп]} \rightarrow \text{H1-[Xl]} \rightarrow \text{Hгб-[XpII]} \rightarrow \text{H1[ЯМ]}$. В работах (Разин и др., 2017) показано, что у млекопитающих внутри ТАДов часто присутствуют петлевые домены, это относится и растениям (Иванова, Вафина, 2006). Существуют достаточно убедительные свидетельства того, что процесс выпетливания фрагментов хроматиновой фибриллы играет важную роль в формировании ТАДов и суб-ТАДов. Всё это (Разин и др., 2017) не отменяет значения межнуклеосомных взаимодействий, которые являются главным «двигателем компактизации» неактивных участков хроматиновой фибриллы. В основе разделения хромосомы на ТАДы и интер-ТАДы лежит различная способность нуклеосом активного и неактивного хроматина к установлению межнуклеосомных контактов. В значительной мере ТАДы являются «хранилищами» не востребуемых генов. Постоянно экспрессирующиеся гены (гены «домашнего хозяйства») сосредоточены в интер-ТАДах. Активации транскрипции внутри ТАДа

приводит к его декомпактизации, завершающейся в ряде случаев формированием нового интер-ТАДа.

Что касается компактно упакованных хроматиновых структур, то они формируются за счет ассоциации нуклеосомных цепей. Ассоциация нуклеосом поддерживается электростатическими взаимодействиями между положительно заряженными N-концевыми доменами гистонов (в первую очередь, гистона H4) одной нуклеосомы и отрицательно заряженной площадкой на поверхности другой нуклеосомы.

Следует иметь ввиду, что обычные экспериментальные данные приводятся в виде усредненных результатов анализа пространственной организации генома в сотнях тысяч клеток.

Следующая фенологическая фаза прорастания, представленная на схемах 3-4 (42ч-48ч), характеризуется ярко выраженным органоспецифическим, координированно-закономерным ростом проростка на уровне мезокотыля и активным ростом зародышевой оси, морфогенетической основы «сигнального языка» побега и корня, где ростовые процессы осуществляются вследствие деления клеток (анатомио-физиолого-биологические особенности этого процесса остаются в ракурсе специалистов интегративной биологии).

На уровне клеточного ядра мезокотыля (42ч) в супраструктурах на поверхности раздела первую позицию занимают коровые гистоны $(\text{H3+H4})\text{''-[Hп]} \rightarrow (\text{H3+H4})\text{''[XpI]} \rightarrow \text{H1}>(\text{H3+H4})\text{'-[XpII]} \rightarrow \text{Hгб [ЯМ]}$. В сигнальных системах: колеоптиль(42ч): $\text{H1-[Hп]} \rightarrow (\text{H2A+H2B})\text{-[XpI]} \rightarrow (\text{H3+H4})\text{'-[XpII]} \rightarrow (\text{H2A+H2B})\text{-[ЯМ]}$; корень(42ч): $\text{H1-[Hп]} \rightarrow (\text{H2A+H2B})\text{-[XpI]} \rightarrow \text{H1-[XpII]} \rightarrow \text{Hгб=H1-[ЯМ]}$. Обращает внимание, что в мезокотыле-(42ч) выявлен блок аргинин-богатых гистонов $(\text{H3+H4})\text{''}$, который выделяется при жёстком экстрагировании, в то время как, обогащенные аргинином гистоны $(\text{H3+H4})\text{'}$, выделяются при экстракции в три раза слабее (схема 1.4). Ранние данные (Иванова, Ахметов, 1987) показали, что фракция $(\text{H3+H4})\text{'}$ представляет собой полный комплект нуклеосомных белков, обогащенных аргинин-богатой фракцией. Как видно из схемы 3

(42ч) на уровне ЯМ все супраструктуры интерфазы мезокотиль(42ч) и корень(42ч) заякорены блоком Нгб прочно связанных ЯМ. О таких белках сообщается (Караванов, Афанасьев, 1983), что это могут быть белки актиновой природы, которые имеют особенность связываться с ДНК. Обсуждая клеточный аспект формообразования по (Барлоу, 1994), где сообщается, что клеточные стенки и связанный с ними цитоскелет (включая и ядерный матрикс-ЯМ), вместе взятые, «являются источником эпигенетической информации для морфогенеза, который определяется как процесс развития органа». Возможно, морфогенетические процессы, связанные с инициацией развития органов и объясняют наличие в мезокотиле (42ч) Нп→ХрI блока коровых гистонов (Н3+Н4)", которые на уровне клеточного ядра заякорены в ЯМ Нгб-мезокотилиа (42ч) и Нгб=Н1 корня(42ч), тем более, что в периоде 48ч, вместо одного главного проклюнувшегося корешка, визуальнo проявляются дополнительно два.

На следующем этапе роста и развития проростка схема 4(48ч), топологически ассоциированные зоны мезокотилиа (48ч) позиционированы соответственно супермолекулярном протеомом: (Н2А+Н2В)-[Нп] → Нгб=(Н3+Н4)'-[ХрI] → (Н3+Н4)'-[ХрII] → (Н3+Н4)'-[ЯМ]; сигнальные системы: колеоптиль(48ч): (Н3+Н4)'-[Нп] → Нгб-[ХрI] → (Н2А+Н2В)-[ХрII] → Н1=Нгб-[ЯМ]; корневая система (48ч): Н1-[Нп] → (Н2А+Н2В)=Н1=(Н3+Н4)'-[ХрI] → (Н3+Н4)'-[ХрII] → (Н2А+Н2В)-[ЯМ] системе. То есть, в корневой системе, особенно на уровне супраструктур -ХрI устанавливаются межнуклеосомные взаимодействия, возможно для формирования суб или интер ТАДов.

Экспериментальный этап, представленный на схеме 3-4 (42ч-48ч), по-видимому, лучше всего рассматривать с позиции активной взаимосвязи митохондриальной энергетики электронной помпы (Иванова, Вафина, 1999), в ракурсе с антероградной и ретроградной регуляцией (Ivanova, 2018). Известно, что основная часть митохондриальных белков, которых более тысячи, закодирована в ядерном геноме. В связи с тем, что функционирование

митохондриального и ядерного генома тесно связано друг с другом, в этом отношении изучают роль локализации мРНК, как эффект немедленного ответа на динамические изменения не только внутри клетки, но и организма в целом, за счет быстрого локального биосинтеза белка (Голани-Армон, Арава, 2016). Различные стресс-сигналы, способны приводить к образованию комплексов мРНП (стресс-гранул). То есть, в клетке определенная информация передается от ядра к митохондриям, а также обратно (ретроградный сигналинг). Основным компактизирующим фактором митохондриального «веретена» растений, с образованием больших функциональных петель, так же являются гистон-подобные белки (Колесников, 2020). Кроме того известно, что нормальная скорость мутагенеза мтДНК весьма высока по сравнению с геномной ядерной яДНК. Вероятно, это объясняется близостью мтДНК (нуклеоидов) к месту генерации активных форм кислорода (АФК), а также более простой, по сравнению с ядерной, системой репликации (Зиновкин *и др.*, 2016). Важно отметить, что несовместимость между митохондриальным и ядерным геномами вносит вклад в создание межвидового репродуктивного барьера (Зиновкин *и др.*, 2016). Также известна способность митохондрий растений активно поглощать ДНК, что может иметь прямое отношение к процессам горизонтального переноса генов в эти органеллы. Этот процесс происходит со значительно более высокой частотой, чем в ядерный и хлоропластный геномы (Константинов *и др.*, 2016). Всё это имеет отношение как к стресс факторам, так и адаптационным процессам, чтобы справиться с жизненной ситуацией роста и развития.

Экспериментальный этап, представленный на схеме 3-4 (42ч-48ч), наряду с энергетической основой взаимосвязанного органоспецифического роста проростка, необходимо рассмотреть с позиции эпигенетики. Согласно определению (Robin, 1994), «эпигенез – изменение экспрессии генов в организме с дифференцированными клетками, наследуемыми митотически». В этом направлении интерес представляют работы, в которых обсуждаются

молекулярные механизмы пространственно-временной регуляции репликации, как на уровне отдельных сайтов инициации репликации (ориджинов), так и на уровне протяженных хроматиновых доменов (Колесникова, 2013). В каждом клеточном цикле геномная ДНК удваивается, с целью обеспечения наследственным материалом дочерние клетки. Считают, что на этом этапе, очень важно, чтобы каждая нуклеотидная последовательность копировалась ровно 1 раз, поэтому процесс репликации должен жестко регулироваться. С одной стороны, ориджин репликации, определяют как участок генома, на котором начинается репликация. С другой стороны, ориджинами репликации часто называют участки ДНК, связывающие белки, вовлеченные в инициацию репликации. Белки, участвующие в инициации репликации, достаточно консервативны. Размер репликонов и расположение ориджинов в значительной степени определяется хроматиновым контекстом. Это регулируется в процессе онтогенеза и меняется в ходе дифференцировки клеток. Следует отметить, что распределение активных ориджинов изменяется в ответ на генотоксический стресс (Колесникова, 2013). Время в S-фазе, когда включается каждый отдельный ориджин, это еще один важный параметр инициации репликации, находящийся под эпигенетическим контролем. Считают, что регуляция времени репликации осуществляется на уровне протяженных хроматиновых доменов. Районы генома, маркированные модификациями гистонов, характерными для активных генов, имеют, как правило, ранние ориджины, в то время как в районах с модификациями, характерными для молчащего хроматина, ориджины активируются обычно в поздней S-фазе. В то же время накапливаются данные о том, что само время репликации в S-фазе можно рассматривать как фактор, определяющий поддержание эпигенетического состояния хроматиновых доменов разного типа (Иванова и др., 2014). Таким образом, эпигенетическое состояние хроматина и время его репликации тесно, связаны между собой. Домены временно скоординированной

репликации представляют собой дискретные единицы хромосомной структуры и функции. И хотя функциональное значение такой жесткой регуляции репликации еще до конца не известно, можно с уверенностью говорить (Колесникова, 2013), что программа репликации — еще одна эпигенетическая характеристика каждого типа клеток, в которых морфогенетическая регуляция устойчивости развития в реакциях на стресс сигнальные факторы отвечает пластичной реорганизацией супрамолекулярных боковых поверхностей хроматиновой матрицы.

ACKNOWLEDGEMENT

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 и.о. руководителю группы математической и молекулярной генетики (ММГ) к.б.н. А.В. Галимзянову; 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 ракурсе супрамолекулярной и интегративной биологии. Особо следует подчеркнуть, что направление данного аспекта работы связано с позицией моих идейных учителей: биохимика В.Г. Конарева, его ученика Р.Р. Ахметова; химиков-высокомолекулярных соединений (ВМС): С.Р. Рафикова (Рафиков и др., 1978), его ученика Г.П. Гладышева (Гладышев, 1993).

REFERENCES

- Барлоу П.У. (1994) Деление клеток в меристемах и значение этого процесса для органогенеза и формообразования растений. *Онтогенез*, **25(5)**, 5-38.
- Булгаков В.П., Цициашвили Г. Ш. (2013) Биоинформационный анализ белковых сетей: поиск статистик и топологий,

- наиболее адекватно отвечающих запросам экспериментальных биологов. *Биохимия*, **78(10)**, 1405-1411.
- Гладышев Г.П. (1993) Мысленно заглянул в космос. *Наука в России*, **(3/4)**, 14-19.
- Голани-Армон А., Арава Й. (2016) Локализация кодируемых ядерными генами мРНК у поверхности митохондрий. *Биохимия*, **81(10)**, 1299-1306.
- Зиновкин Р.А., Скулачев М.В., Скулачев В.П. (2016) Митохондриальный геном и продолжительность жизни. *Биохимия*, **81(12)**, 1669-1974.
- Иванова Э.А. (2019) Особенности «структурированных процессов» в интерфазных ядрах у пшеницы, выведенной в условиях холодового стресса. *Экобиотех*, **2(4)**, 1-6.
- Иванова Э.А., Ахметов Р.Р. (1987) Модификация негистоновых белков в проростках растений. *Физиология растений*, **34(3)**, 507-512.
- Иванова Э.А., Вафина Г.Х. (1999) Антиоксидантная активность пероксидазной системы надмолекулярных структур клеточных ядер в постэмбриональной фазе онтогенеза пшеницы. *Весці нацыянальнай акадэміі навук Беларусі, серыя біялагічных навук*, **(2)**, 25-29.
- Иванова Э.А., Вафина Г.Х. (2006) Анализ надмолекулярных структур клеточного ядра при активации хроматина. *Доклады Академии Наук*, **406(3)**. 419-421.
- Иванова Э.А., Вафина Г.Х., Иванов Р.С. (2014) Анализ локализации протеазочувствительных сайтов Арг-Х в динамике супраструктур интерфазного хроматина при индукции ростового морфогенеза зрелых зародышей яровой и озимой пшеницы. *Физиология и генетика – Киев*, **46(3)**, 202-211.
- Иванова Э.А., Вафина Г.Х., Ямалеев А.М. (1989) Исследование функциональной активности клеточных ядер при патогенезе пшеницы. *Микология и фитопатология*, **23(2)**, 141-146.
- Иванова Э.А., Гилязетдинов Ш.Я., Ахметов Р.Р. (1975) Модификация гистонов растений и влияние фитогормонов на интенсивность этого процесса. Растительные белки и их биосинтез.- М.: Наука, 301-305.
- Караванов А.А., Афанасьев Б.Н. (1983) Негистоновые белки хроматина. *Молекулярная биология*, **47(2)**, 213-233.
- Колесников А.А. (2016) Митохондриальный геном. Нуклеоид. *Биохимия*, **81(10)**, 1322-1331.
- Колесникова Т.Д. (2013) Механизмы пространственно-временной регуляции репликации. *Молекулярная биология*, **47(1)**, 12-37.
- Конарев В.Г. (1966) Цитохимия и гистохимия растений. – М.: Высшая школа. (1972) *Cytochemistry and histochemistry of plants. - Israel program for scientific translation, Jerusalem.*
- Конарев В.Г. (1998) Морфогенез растений и молекулярно-биологический анализ. - Санкт-Петербург: РАСХН, ВИР им. Н.И.Вавилова, 370 с.
- Константинов Ю.М., Дитриш А., Вебер-Лотфи Ф., Ибрагим Н., Клименко Е.С., Тарасенко В.И., Болотова Т.А., Куличенко М.В. Импорт ДНК в митохондрии. *Биохимия*, **81(10)**, 1307 – 1321.
- Лен Ж.М. (1998) Супрамолекулярная химия. - Новосибирск: Наука, - 333 с.
- Разин С.В. (2018) Структурно-функциональная организация клеточного ядра и регуляция транскрипции: вводные замечания к специальному выпуску журнала. *Биохимия*, **83**, 437-439.
- Разин С.В., Гаврилов А.А. (2018) Структурно-функциональные домены эукариотического генома. *Биохимия*, **83**, 440-451.
- 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.
- Рафиков С.Р., Будтов В.П., Монаков Ю.Б. (1978) Введение в физико-химию растворов полимеров. – М.: Наука, -300 с.
- Ремесло В.Н. (1964) Озимая пшеница Мироновская 264 и Мироновская 808. – М.: Колос, 52-53.
- Салменкова Е.А. (2013) Молекулярно-генетические основы процессов адаптации и подходы к их анализу. *Генетика*, **49(1)**, 94-102.
- 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: Книжный дом, - 460 с.
- Шабарина А.Н., Глазков М.В. (2013) Барьерные элементы хроматиновых доменов и ядерная оболочка. *Генетика*, **49(1)**, 30-36.
- Fierz V. (2015) Dynamic chromatin regulation from a single molecule perspective. *ACS Chem Biol.* 13.
- 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.
- Ivanova E.A. (2018) Anterograde to adjusting, as system organization to localization of Arg-X of, proteo-processing in the topological associated ensembles of karyogenomics suprastructure interphase nucleus, at induction of growth morphogenesis of mature germs of wheat. *Journal of applied microbiology and biochemistry*, **2(1:4)**.
- Ivanova E.A. (2019) On the question of epigenetic mechanisms of karyogenomic winter wheat in the concept of supramolecular biochemistry. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, **15(3)**, 14-20.
- Ivanova E.A., Vafina G.H., Ivanov R.S. (2015) Initial morphogenetic features of proteome of suprastructures of interphase chromatin for germination of mature germs in conditions of adapting to winter in wheat. *Journal of stress physiology and biochemistry*, **11(4)**, 29-42.
- Robin H. (1994) Epigenetics: An overview. *Dev. Genet.*, **15(6)**, 453-457.
- Spicer S. (1984) High-mobility group chromosomal proteins of wheat. *The journal of biological chemistry*, **259(19)**, 12007-12013.
- Schubert I., Shaw P. (2011) Organization and dynamics of plant interphase chromosomes. *Trends in plant science*, **16(5)**, 273-281.
- Tropberger P., Schneider R. (2013) Scratching the (lateral) surface of chromatin regulation by histone modifications. *Nature structural and molecular biology*, 20(6).