

С. И. МИШАРИН, А. И. АНТИПИНА, В. Н. ИВАНОВ, К. Н. ДАНОВИЧ,
член-корреспондент АН СССР Ф. Э. РЕЙМЕРС, Э. Е. ХАВКИН

ТРАНЗИТОРНЫЕ АНТИГЕНЫ В ФОРМИРУЮЩЕМСЯ И ПРОРАСТАЮЩЕМ СЕМЕНИ КУКУРУЗЫ

При изучении последовательных этапов роста клеток в корне кукурузы наблюдаются существенные количественные изменения в соотношении антигенов ⁽¹⁾. Новые антигены появляются, по-видимому, лишь при формировании проводящих элементов корня, различия в составе антигенов обнаруживаются также при сравнении таких специализированных органов проростка, как корень и щиток ⁽²⁾. Вероятно, самые первые этапы дифференцировки клеток корня (в фазе растяжения и немедленно вслед за прекращением роста клеток в длину) осуществляются преимущественно за счет стабильных мРНК, транскрибированных в эмбриогенезе ⁽³⁾ и содержащихся в предетерминированных меристематических клетках. Такая предетерминация в эмбриогенезе должна обусловить возникновение различий в составе белков у специализированных органов будущего растения и появление органоспецифичных маркерных антигенов.

Для проверки этого предположения мы сравнили антигенный состав белков в цветках до и после оплодотворения и в формирующихся и прорастающих зерновках кукурузы. В настоящем сообщении впервые описана характерная группа транзитных ⁽⁴⁾ антигенов, которые отсутствуют до оплодотворения, в определенной последовательности появляются в эмбриогенезе, дифференциально накапливаются в разных органах зародыша и в эндосперме, а затем быстро исчезают из них в первые же дни прорастания. Динамика антигенов коррелирует с ходом морфодифференцировки. Это в известной мере напоминает картину, неоднократно описанную при иммуноэмбриологических исследованиях животных объектов ⁽⁴⁾.

Растения кукурузы (гибрид Буковинский 3) выращивали сначала в обогреваемой теплице при укороченном световом дне, а затем в полевых условиях под пленочным укрытием. Растения зацвели во второй декаде июля, формирование семян завершилось приблизительно через 60 дней после опыления. Техника получения антисывороток и анализа антигенных спектров методом двумерного иммуноэлектрофореза и двойной иммунодиффузии описана ранее ^(1, 2). Начиная со 2-го дня после опыления цветки, формирующиеся зерновки, а затем и изолированные из них зародыши (со щитком) фиксировали смесью Карнуа. Постоянные препараты готовили по общепринятой методике и окрашивали проционовым голубым RS, рН 5,6, затем проционовым ярко-красным 2BS в 1% растворе соды ⁽⁵⁾.

Темпы эмбриогенеза в условиях наших опытов принципиально не отличались от тех, которые были отмечены ранее Рендольфом ⁽⁶⁾. В полном согласии с наблюдениями этого автора, в растущем зародыше на 10–12-й день после опыления возникает характерный выступ, дающий начало щитку, и обозначается ось корень — стебель. В следующие 7–12 дней идет быстрое формирование органов осевой части и рост щитка (ср. ^(6, 7)).

Первоначальной целью нашего исследования было проследить в ходе формирования и дифференцировки щитка за динамикой маркерной группы антигенов, присутствующих в щитке покоящихся семян, но не обнару-

живаемых в корне проростков (²). Условно обозначим эту группу как специфичные антигены щитка (с.а.щ.).

До опыления в растущих тканях цветка — в делящихся клетках завязи и быстро удлиняющихся клетках столбика и рыльца (нити) — содержится

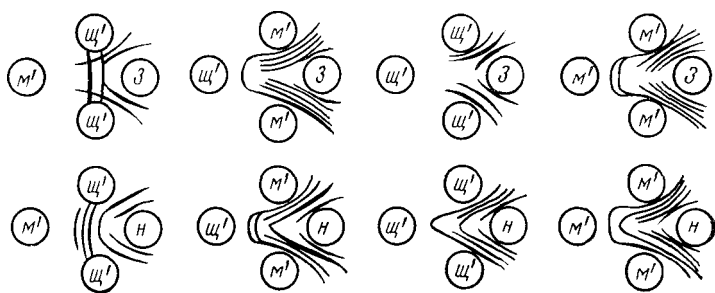


Рис. 1. Антигены цветка до опыления (метод двойной иммунодиффузии). з, н — белки завязей и нитей; м', щ' — антисыворотки на белки меристемы корней 3-дневных проростков и щитков покоящихся семян

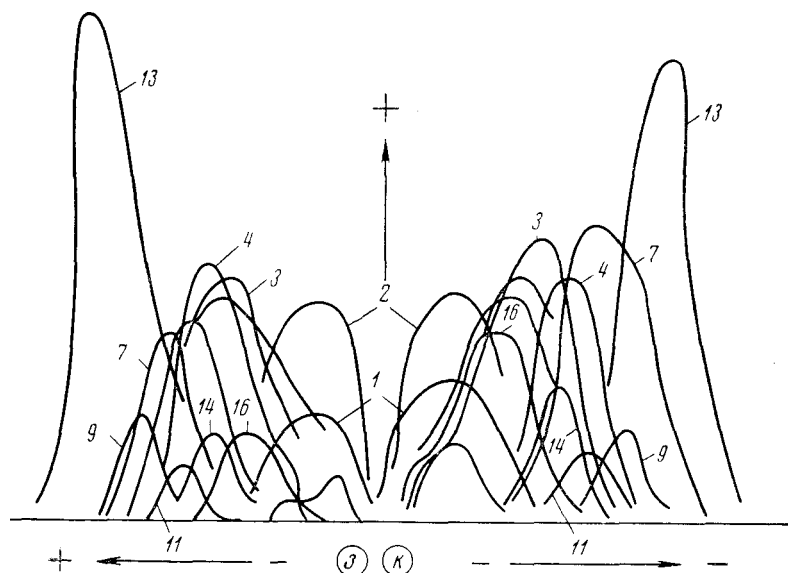


Рис. 2. Сравнение антигенов цветков (до опыления) и корня проростков методом двумерного иммуноэлектрофореза. з — белки завязей, к — белки зрелой части корней 3-дневных проростков. В гель вводили сыворотку на белки зрелой части корней

обычный набор антигенов, характерных для растущих клеток самых различных органов растения кукурузы. Антигены завязи и нитей сходны с антигенами корня, а с.а.щ. в них не выявляются (рис. 1). Количественный анализ антигенов завязи и корня указывает на заметные различия в концентрации индивидуальных компонентов (рис. 2): антигена 13 в завязи больше, а антигена 7 — существенно меньше, чем в корне проростка. Особый интерес представляет антиген 16, содержание которого в завязи до оплодотворения вдвое ниже, чем в корне. В первые же дни после оплодотворения количество этого антигена в завязи быстро падает, а на 18-й день после опыления этот антиген уже не обнаруживается в тканях зародыша. Однако он снова появляется в меристеме корня и coleoptile при прорастании и быстро накапливается в растягивающихся клетках (¹).

Рост проэмбрио в первые десять дней после опыления не вносит заметных изменений в состав антигенов завязи. Лишь на 11-й день, когда в зародыше мы наблюдаем первые признаки дифференцировки, появляется первый из с.а.щ. (рис. 3); к 18-у дню их уже два, к 23-у дню — четыре.

Рис. 3. Динамика с.а.щ. в формирующемся зародыше (метод двойной иммунодиффузии). 0 — до опыления, 2—38 — дни после опыления, щ — щитки покоящихся семян. 0—11 — для анализов брали всю завязь; 18—23 — изолировали зародыш, 38 — выделяли щиток. Обозначения антисывороток — как на рис. 1

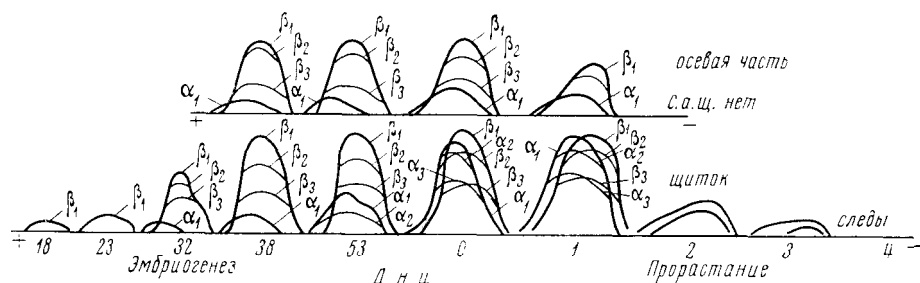
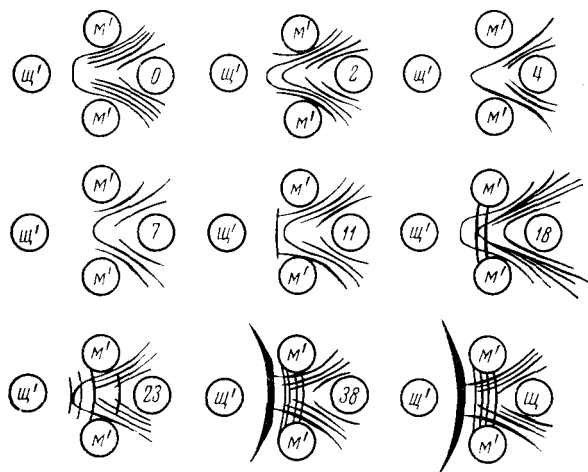


Рис. 4. Динамика с.а.щ. (остальные антигены на рисунке не показаны) в формирующемся зародыше и проростке (метод двумерного иммуноэлектрофореза). В гель вводили сыворотку на белки щитков из покоящихся семян

Все пять с.а.щ. выявляются к 38-у дню после опыления, когда зародыш со щитком достигает $\frac{3}{4}$ своего окончательного размера.

Двумерный иммуноэлектрофорез обнаруживает первый из с.а.щ. на 18-й день после опыления (рис. 4). Большая разрешающая способность этого метода позволяет разделить с.а.щ. на две подгруппы. Менее подвижные β -антигены появляются раньше и накапливаются быстрее, так что их концентрация в щитках 38-дневных зародышей практически та же, что и в щитках покоящихся семян. На более поздних стадиях роста щитка появляются α -с.а.щ., их накопление продолжается до окончательного созревания зерновки. В количественном отношении с.а.щ. резко преобладают в антигенном спектре щитков.

Неожиданные результаты дал анализ с.а.щ. в зародыше, расчлененном на щиток и осевую часть, начиная с 38-го дня после опыления. Оказалось, что с.а.щ., отсутствующие в корне проростков и поэтому принятые нами ранее за органоспецифические антигены ⁽²⁾, в ходе эмбриогенеза появляются во всех органах зародыша и даже в эндосперме. Поэтому их правильнее отнести к межорганным антигенам, по классификации Вязова ⁽⁴⁾. Содержание этих антигенов в осевой части и эндосперме намного ниже, чем в щитке: более того, два из трех α -с.а.щ. в осевой части не удается выявить даже в зрелых семенах. Тем не менее с.а.щ. не могут служить маркером специфической дифференцировки щитка. Это скорее

межорганные эмбриональные антигены, характерные для определенного этапа дифференцировки всех или большинства тканей зерновки.

Если с.а.щ. появляются в осевой части формирующегося зародыша, но не обнаруживаются в корне проростка, то они должны исчезать из корня в самом начале прорастания. Действительно, на фоне накопления в проростке неспецифических антигенов, общих для всех типов клеток, удается проследить за последовательным уменьшением концентрации и числа с.а.щ. в корне и coleoptile в первые два дня прорастания. Из щитка при прорастании сначала исчезают α -с.а.щ., концентрация β -с.а.щ. быстро уменьшается, и к 4-у дню прорастания при иммунофорезе обнаруживаются лишь следовые количества двух из этих антигенов. Методом иммунодиффузии один из с.а.щ. выявляется в щитке и эндосперме вплоть до 10-го дня прорастания, к этому времени из эндосперма уже исчезают антигены, общие с корнем.

Иммунохимические исследования белков формирующихся семян посвящены преимущественно характерным запасным глобулинам семядолей бобовых (⁸⁻¹⁰) или проламинам эндосперма злаков (¹¹). Появление органоспецифических и межорганных антигенов в осевой части зародыша и в семядолях отмечено у фасоли (⁸) и арахиса (¹⁰). Несколько межорганных и один органоспецифический антиген обнаружены в зародыше и эндосперме покоящихся семян кукурузы (¹²); так же как и в наших опытах, большинство этих антигенов быстро исчезало в первые дни прорастания. Необходимо подчеркнуть, что отнесение антигенов к органоспецифическим или межорганным во всех указанных случаях зависело от чувствительности методов, и функции этих антигенов остаются неизвестными.

Быстрое исчезновение с.а.щ. из тканей зародыша при прорастании заставляет отказаться от исходного предположения о том, что с.а.щ. являются специализированными белками щитка и маркерами преддетерминации, однако их можно использовать в качестве маркеров дифференциальной активности генов в раннем эмбриогенезе. Подобно другим межорганным антигенам, обнаруженная нами группа транзиторных белков, возможно, обладает морфогенетической активностью (⁴). Однако высокое содержание этих белков в щитках заставляет предпочесть другую гипотезу. В отличие от зеина и глютелинов — типичных запасных белков запасяющих тканей, — эти эмбриональные антигены могут быть связаны с быстро метаболизируемыми запасными отложениями в других тканях зерновки: отложениями белка в пластидах, белковыми тельцами различной природы или сферосомами (^{13, 14}). Мембраны сферосом заслуживают особого предпочтения из-за обилия в щитке запасных липидов. Однако окончательный ответ на вопрос о функциях этих антигенов дадут лишь прямые исследования локализации антигенов в клетке.

Авторы выражают благодарность В. Б. Иванову за полезные советы при проведении гистологической части работы, Н. Л. Клячко и А. Д. Володарскому — за интересное обсуждение.

Сибирский институт физиологии и биохимии растений
Сибирского отделения Академии наук СССР
Иркутск

Поступило
31 III 1975

Иркутский государственный университет
им. А. А. Жданова

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. Н. Иванов и др., ДАН, т. 218, 1229 (1974). ² С. И. Мишарин и др., ДАН, т. 219, 493 (1974). ³ J. N. Ihle, L. S. Dure III, J. Biol. Chem., v. 247, 5048 (1972). ⁴ Основы иммуноэмбриологии, М., 1973. ⁵ В. Б. Иванов, Клеточные основы роста растений, М., 1974. ⁶ L. F. Randolph, J. Agr. Res., v. 53, 881 (1936). ⁷ T. A. Kiesselbach, E. R. Walker, Am. J. Bot., v. 39, 561 (1952). ⁸ J. Klotz et al., Biol. plantarum, v. 2, 126 (1960). ⁹ A. Millerd et al., Plant Physiol., v. 48, 419 (1971). ¹⁰ J. Daussant et al., Plant Physiol., v. 44, 471 (1969); v. 44, 480 (1969). ¹¹ А. Н. Павлов и др., Физiol. раст., т. 22, 80 (1975). ¹² T. P. O'Brien, K. V. Thimann, Protoplasma, v. 63, 443 (1967). ¹³ М. Ф. Данилова, Структурные основы поглощения веществ корнем, Л., 1974.