

УДК 58:577.112:52-423

**О. А. Артеменко**

Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного Національної академії наук України, Київ

## ОСОБЛИВОСТІ РЕГУЛЯЦІЇ КЛІТИННОГО ЦИКЛУ РОСЛИН В УМОВАХ ЗМІНЕНОЇ ГРАВІТАЦІЇ

*Оскільки основними регуляторами клітинного циклу еукаріот є цикліни і циклін-залежні кінази (ЦЗК), припускається суттєва зміна саме їхнього рівня у клітинах в умовах мікрогравітації та дії інших фізичних факторів. Використання клиностакування дає можливість визначити вплив симульованої гравітації на події у клітині протягом клітинного циклу — вихід зі стану спокою і просування по пресинтетичній (G1) і фазі синтезу ДНК(S) клітинного циклу. Для вивчення впливу клиностакування на активність клітинної проліферації необхідні дослідження як молекулярних механізмів регуляції клітинного циклу, так і розвитку рослин в умовах зміненої гравітації. Активність цикліну D, який відповідає за перебіг подій клітинного циклу в пресинтетичній фазі, може контролюватися дією як ендогенних, так і екзогенних факторів, а клиностакування є одним із тих факторів, що впливають на експресію генів, які регулюють клітинний цикл. Ці дані можна використати як модель для подальшого дослідження комплексу циклін — ЦЗК у вивченні молекулярних механізмів регуляції росту та проліферації. В роботі аналізуються відомі літературні та отримані нами дані стосовно основних регуляторів клітинного циклу в умовах зміненої гравітації.*

**Ключові слова:** клітинний цикл, рослина, цикліни, циклін-залежні кінази, гравічутливість, клиностакування.

---

Найбільшу зацікавленість для дослідження викликають гени δ-циклінів (що належать до класу D-циклінів), які дуже важливі для проходження клітиною пресинтетичної фази клітинного циклу і відповідають за вихід клітини зі стану спокою та перехід до фази синтезу ДНК, а також ЦЗК2, що активується цим класом циклінів й утворює активний ЦЗК-цикліновий комплекс. Саме вивчення ЦЗК необхідне для розуміння фундаментальних механізмів контролю клітинного циклу [3].

У дослідах з різними видами вищих рослин спостерігається різноманітність їхньої ростової реакції на вплив зміненої гравітації в умовах космічних експериментів чи при клиноставанні: виявлено як стимуляцію росту, так і його пригні-

чення, або ж відсутність помітних змін інтенсивності цього процесу. Встановлено також, що характер росту може змінюватися залежно від тривалості дії даного чинника. Так, в експериментах з насінням *Brassica napuss L.*, що проростало в умовах клиностакування, швидкість росту кореня збільшувалася протягом перших п'ять діб, але зменшувалася через 15 діб. Цю закономірність автори пов'язують зі змінами в гормональному балансі клітин меристем, швидкість поділу яких є одним із основних факторів, що визначає інтенсивність росту рослин [1, 2].

Результати вивчення впливу зміненої гравітації безпосередньо на процес поділу клітин в меристемах рослин також неоднозначні. При експозиції в таких умовах від 2 до 9 діб спостерігали пригнічення мітотичної активності, а при короткотривалій дії — або стимуляцію, або незначні відмінності порівняно з контролем [11].

Експерименти у космосі показали, що у клітинах коренів рослин відсутність сили тяжіння призводить до відокремлення процесів клітинного росту та проліферації клітин. У космосі проліферація клітин збільшується, тоді як ріст клітин зменшується. Координація росту та проліферації клітин є головною особливістю клітин меристеми, а таке роз'єднання є суттєвим стресом для клітин і призводить до важливих змін у структурі та розвитку рослини [10].

Механізми геотропізму та гравічутливості взаємодоповнювальні: перший з них в основному чутливий до напрямку вектора гравітації, а другий — до його модуля. Оскільки рослина ніколи не зустрічалась раніше в ході еволюції з таким видом стресу, як зміна гравітації, щоб протидіяти їй, геном має бути достатньо стійким на молекулярному рівні. В цьому плані мультигенні родини та резервні гени мають перевагу, бо вони можуть змінюватися без ризику нашкодити клітині, і тому саме вони мають відігравати ключову роль у відповіді на гравітаційний стрес [7]. Безумовно, до таких родин належать і цикліни, і ЦЗК.

Під час перебігу подій клітинного циклу відбувається зміна кількості окремих циклінів, що пов'язано зі зміною рівня їхньої транскрипції та протеолізу з подальшою зміною субстратів ЦЗК протягом циклу. Деяке дублювання функцій окремих циклінів *in vivo* було визначене завдяки так званому «вилученню циклінів» (cyclin

deletions — коли окремий циклін був інактивований), і запропоновано як шаблон, в якому цикліни можуть виконувати повноцінно функції, ініційовані попередніми циклінами, що підлягають протеолізу, щоб зберегти життєздатність клітини. Накопичення цикліну особливо важливо в завершенні фази G1, коли він підвищує активність ЦЗК і починає події, що призводять до реплікації ДНК. Передбачається, що цей механізм актуальний не тільки для рослин [5].

A- та B-типи циклінів — це мітотичні цикліни, що забезпечують просування клітини через G2 (постсинтетична) до M (мітоз) фази клітинного циклу. Велика кількість експериментів з рослинами також показала, що цей період контролюється A- та B-типами ЦЗК, асоційованими з відповідними циклінами. D-циклін належить до циклінів пресинтетичної фази і демонструє незалежну від фаз клітинного циклу експресію. Рослинні D-цикліни класифіковано на три групи (D1—D3), серед яких найбільш вивчені і визначені гени, які кодують циклін D3. Враховуючи, що *Arabidopsis* не має аналогів людської ЦЗК4 та ЦЗК6, цілком імовірно, що в рослинах D-цикліни можуть функціонувати в G1-фазі, зв'язуючись з A-типом ЦЗК. Як і тваринні клітини, рослинні також експресують декілька видів ЦЗК і множинні гени для ЦЗК, які були знайдені в *Arabidopsis*, люцерні, рисі, сої, кукурудзі та *Antirrhinum*. Це свідчить про те, що поділ рослинних клітин контролюється конкретними па-

#### Класифікація та функції деяких ЦЗК еукаріот

| Вид                             | Назва | Синонім | Розмір<br>(амінокислотні залишки) | Функція                     |
|---------------------------------|-------|---------|-----------------------------------|-----------------------------|
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Cdk1  | Cdc28   | 298                               | Усі стадії клітинного циклу |
| <i>Saccharomyces pombe</i>      | Cdk1  | Cdc2    | 297                               | Усі стадії клітинного циклу |
| <i>Drosophila melanogaster</i>  | Cdk1  | Cdc2    | 297                               | M                           |
|                                 | Cdk2  | Cdc2c   | 314                               | G1/S, S, можливо, M         |
|                                 | Cdk4  | Cdk4/6  | 317                               | G1, забезпечує ріст         |
| <i>Xenopus laevis</i>           | Cdk1  | Cdc2    | 301                               | M                           |
|                                 | Cdk2  |         | 297                               | S, можливо, G1/ S           |
| <i>Homo sapiens</i>             | Cdk1  | Cdc2    | 297                               | M                           |
|                                 | Cdk2  |         | 298                               | G1/S, S, можливо, M         |
|                                 | Cdk4  |         | 303                               | G1                          |
|                                 | Cdk6  |         | 326                               | G1                          |

рами ЦЗК/циклін, а не за допомогою однієї основної ЦЗК, як у дріжджів. Тим не менш, на сьогоднішній день небагато інформації щодо активності ЦЗК-циклінових комплексів у рослин. Рослинні ЦЗК можуть бути розподілені на п'ять груп (від А- до Е-типу), основаних на подібності амінокислотних залишків. Виявлено деяку подібність між ними, яка вказує, що кожен А-тип ЦЗК має консервативну послідовність PSTAIRE, показує конститутивну експресію протягом усього клітинного циклу і може функціонувати, взаємодіючи з різними циклінами в кожній фазі клітинного циклу. На відміну від цього типу, В-тип ЦЗК відрізняється від решти, оскільки їхні транскрипти накопичуються частково у фазах клітинного циклу, а саме під час переходу G2-M-фаз та S-M-фаз. Таким чином, ці ЦЗК активуються шляхом взаємодії з мітотичними циклінами [12].

Найбільш поширена в літературних джерелах ідентифікація називає вісім індивідуальних ЦЗК (ЦЗК1 — ЦЗК8), частина яких безпосередньо не бере участі в регуляції клітинного циклу (див. таблицю). Для поліпептидних ланцюгів усіх ЦЗК характерна висока (до 75 %) структурна гомологія. Специфічність їхнього функціонування забезпечує унікальні сайти зв'язування відповідних активуючих циклінів.

Прийняту нумерацію ЦЗК (Cdk в англійському варіанті) визначено послідовно за їхнім відкриттям:

- ЦЗК1 асоціюється з циклінами А та В і бере участь у переході G2-M;
- ЦЗК2 може зв'язуватися з циклінами А, Е, D2 та D3 (але не D1) та є однією з основних кіназ, які регулюють перехід G1-S і проходження через S-фазу;
- ЦЗК3 експресується у більшості клітин на незначному рівні, її функція поки що не визначена, хоча припускається, що вона, подібно до ЦЗК2, бере участь у переході G1-S;
- ЦЗК5 — дані про її роль та циклінів, що з нею взаємодіють, суперечливі;
- ЦЗК4 та ЦЗК6 беруть участь у регуляції переходу G1-S. Вони є основними каталітичними партнерами циклінів D-типу, утворюють з ними функціональні комплекси, що володіють суб-

стратною специфічністю для білка Rb (ретинобластоми) [14].

Клітинний цикл управляється активністю комплексів циклінів — ЦЗК. Таким чином, внутрішні та зовнішні сигнали регулюють активність цих комплексів, впливаючи на клітинну проліферацію у певних процесах розвитку організму та в різних умовах оточуючого середовища. Діяльність комплексу циклінів — ЦЗК супроводжується кількома механізмами: контроль транскрипції, деградація білку, фосфорилювання, активація інгібіторів ЦЗК. Ці молекулярні механізми лежать в основі регуляції входу та виходу клітини з клітинного циклу, швидкості перебігу клітинного циклу, або пересуванні по різних фазах клітинного циклу [15].

ЦЗК сприймаються як локомотиви просування клітинного циклу, тоді як цикліни схожі на шестерні, які змінюються, щоб допомогти здійсненню переходу між фазами циклу. Кіназна активність ЦЗК-циклінових комплексів жорстко регулюється безліччю інгібіторів ЦЗК — циклінкіназами інгібіторами ЦКІ (англ. — CKI), які гальмують просування клітинного циклу при несприятливих умовах [8].

Попередні дослідження впливу реальної мікрогравітації в космічному польоті та симульованої мікрогравітації (клиностакування) в земних умовах показали зміни проліферативної активності клітин апікальної меристеми коренів [4, 11], що підтверджує положення про найбільшу гравічутливість рослинних клітин, які діляться або активно метаболізують [9]. Оскільки було встановлено, що уповільнення клітинного циклу в умовах зміненої гравітації відбувається в основному за рахунок подовження G1-фази, як і при дії інших несприятливих факторів, ми поставили за мету дослідити експресію генів  $\delta 1$ - та  $\delta 3$ -циклінів у апікальній меристемі зародкових коренів у першому клітинному циклі у процесі індукції проростання [2].

Раніше ми показали, що клиностакування гальмує перехід клітин кореневої меристеми рослин від пресинтетичної фази першого клітинного циклу у фазу синтезу ДНК завдяки накопиченню у клітині транскриптів  $\delta 3$ -цикліну, який відповідає за вступ клітини у фазу синтезу,

і є похідним D-типу циклінів [2]. Вважається, що надекспресія гена  $\delta 3$ -цикліну є відповіддю клітини на стресові умови і свідчить про вплив клиностатування на клітинний цикл. Транскрипційна активність генів циклінів в умовах клиностатування вища, ніж у контролі, однак очевидна затримка переходу клітин у фазу синтезу ДНК, наймовірніше, зумовлена неактивним станом ЦЗК-циклінового комплексу за рахунок дії циклін-кіназних інгібіторів (ЦКІ) [6, 13].

Отже, аналізуючи отримані дані щодо проліферативної активності клітин кореневої меристеми рослин та перебігу клітинного циклу в умовах космічного польоту та клиностатування, можна зробити такі висновки. Суперечливість даних щодо збільшення або зменшення проліферативної активності зумовлена різними строкками дослідження клітинного циклу; протягом першого клітинного циклу відбувається збільшення транскрипції певних генів клітинного циклу і затримка переходу клітин від пресинтетичної фази до фази синтезу ДНК, що і призводить до зниження проліферативного пулу. Однак на пізніших етапах росту спостерігається збільшення проліферативної активності, що може свідчити про роботу адаптаційних механізмів і відновлення механізмів нормального життєзабезпечення клітини. Крім того, клиностатування лише імітує окремі фактори космічного польоту, тоді як в умовах реального космічного польоту додається ще дія космічного опромінення, знижений тиск, шум, вібрації, прискорення тощо. Такі розбіжності в умовах проведення експериментів пояснюють різноманітність описаних результатів стосовно цього питання, проте всі вони допомагають встановити цілісність і повноту всього процесу клітинного циклу в умовах зміненої гравітації, а також висвітлюють проблеми і питання, які ще потрібно дослідити.

1. Артеменко О. А. Сучасні уявлення про регуляцію клітинного циклу у рослин // Укр. ботан. журн. — 2001. — **58**, № 4. — С. 415—421.
2. Артеменко О. А. Експресія генів  $\delta 1$ - та  $\delta 3$ -циклінів в кореневій меристемі *Pisum sativum L.* за умов кліно-

- статування // Цитологія та генетика. — 2006. — **40**, № 2. — С. 36—41.
3. Артеменко О. А. Регулятори клеточного цикла в трансгенных растениях *Arabidopsis thaliana* (L) Heynh. в условиях клиностатирования // Укр. ботан. журн. — 2014. — **71**, № 5. — С. 620—640.
4. Aarouf J., Schoevaert D., Maldiney R., Perbal G. Changes in hormonal balance and meristematic activity in primary root tips on the slowly rotating clinostat and their effect on the development of the rapeseed root system // *Physiol. Plant.* — 1999. — **105**. — P. 708—718.
5. Fuster Jose J., Fernandez Patricia, Gonzalez-Navarro Herminia, Silvestre Carlos, et al. Control of cell proliferation in atherosclerosis: insights from animal models and human studies // *Cardiovasc. — Res.* doi: 10.1093/cvr/cvp363. First published online: November 9, 2009.
6. Healy J. M., Menges M., Doonan J. H., Murray J. A. The Arabidopsis D-type cyclins CycD2 and CycD3 both interact in vivo with the PSTAIRE cyclin-dependent kinase Cdc2a but are differentially controlled // *J. Biol. Chem.* — 2001. — **276**. — P. 7041—7047.
7. Herranz R., Medina F. J. Cell proliferation and plant development under novel altered gravity environments // *Plant Biol. (Stuttg.)*. — 2014. — **16**, N 1. — P. 23—30.
8. Inagaki S., Umeda M. Cell-cycle control and plant development // *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* — 2011. — **291**. — P. 227—261.
9. Kordyum E. L. Biology of plant cell microgravity and under clinostating // *Int. Rev. Cytol.* — 1997. — **171**. — P. 1—72.
10. Medina F., Herranz R. Microgravity environment uncouples cell growth and cell proliferation in root meristematic cells. The mediator role of auxin // *Plant Signal Behav.* — 2010. — **5**, N 1. — P. 176—179.
11. Merkys A. J., Laurinavicius R. S. Plant growth in space // *Fundamentals of Space Biology / Eds M. Asashima, G. M. Malacinski.* — Tokyo: Jap. Sci. Soc. Press; Berlin: Springer Verlag, 1990. — P. 69—83.
12. Mews M., Moore R. Cyclin/Cdk complexes: their involvement in cell cycle progression and mitotic division // *Protoplasma.* — 2001. — **216**, N 3-4. — P. 119—142.
13. Morgan D. O. The cell cycle: principles of control. — New Science Press, 2007. — 297 p.
14. Sherr C. J., Roberts J. M. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression // *Genes Dev.* — 1999. — **13**, N 12. — P. 1501—1512.
15. Van den Heuvel S., Harlow E. Distinct roles for cyclin-dependent kinases in cell cycle control // *Sci.* — 1994. — **262**. — P. 2050—2054.

Стаття надійшла до редакції 18.06.15

О. А. Артеменко

Институт ботаники им. Н. Г. Холодного  
Национальной академии наук Украины, Киев

### ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ИЗМЕНЕННОЙ ГРАВИТАЦИИ

Поскольку основными регуляторами клеточного цикла эукариот являются циклины и циклин-зависимые киназы (ЦЗК), предполагается существенное изменение именно их уровня в клетках в условиях микрогравитации и при действии других физических факторов. Использование клиноротирования дает возможность определить влияние симулированной гравитации на события в клетке в течение клеточного цикла — выход из состояния покоя и продвижение по пресинтетической (G1) и фазе синтеза ДНК (S) клеточного цикла. Для изучения влияния клиноротирования на активность клеточной пролиферации необходимы исследования как молекулярных механизмов регуляции клеточного цикла, так и развития растений в условиях измененной гравитации. Активность циклина D, который отвечает за протекание событий клеточного цикла в пресинтетической фазе, может контролироваться действием как эндогенных, так и экзогенных факторов, а клиноротирование — это один из тех факторов, которые влияют на экспрессию генов, регулирующих клеточный цикл. Эти данные можно использовать как модель для дальнейшего исследования комплекса циклин-ЦЗК в изучении молекулярных механизмов регуляции роста и пролиферации. В данной работе мы попытались обобщить и проанализировать литературные и полученные нами данные относительно основных регуляторов клеточного цикла в условиях измененной гравитации.

**Ключевые слова:** клеточный цикл, растение, циклины, циклин-зависимые киназы, гравичувствительность, клиноротирование.

О. А. Artemenko

Institute of Botany  
of the National Academy of Science of Ukraine, Kyiv

### FEATURES OF PLANT CELL CYCLE REGULATION UNDER ALTERED GRAVITY CONDITIONS

Cyclins and cyclin-dependent kinases (CDK) are main regulators of the cell cycle of eukaryotes. It's assumed a significant change of their level in cells under microgravity conditions and by other physical factors actions. The clinorotation use enables to determine the influence of gravity on the simulated events in a cell during the cell cycle — exit from the state of quiet stage and propagation through presynthetic phase (G1) and DNA synthesis phase (S) of the cell cycle. For the clinorotation effect study on a cell proliferation activity is the necessary study of molecular mechanisms of the cell cycle regulation and development of plants under altered gravity conditions. The activity of cyclin D, which is responsible for the events of the cell cycle in presynthetic phase can be controlled by the action of endogenous as well as exogenous factors, but clinorotation is one of the factors that influence on genes expression that regulate the cell cycle. This data can be used as a model for a further research on cyclin — CDK complex for study molecular mechanisms of regulation of growth and proliferation. In this investigation we tried to summarize and analyze both bibliographic sources and our own data as for the main regulators of the cell cycle in altered gravity conditions.

**Key words:** cell cycle, plant, cyclins, cyclin-depending kinases, gravysensitive, clinorotation.