

АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ РОСЛИН І ГЕНЕТИКИ

На правах рукопису

ПАСТУХОВА Наталія Леонідівна

ВПЛИВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА СИНТЕЗ СТРЕСОВИХ БІЛКІВ

03.00.12 - фізіологія рослин

А в т о р е ф е р а т
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ - 1993

AB 28. 206

Робота виконана у відділі фізіології Донецького ботанічного саду АН України

Науковий керівник: доктор біологічних наук,
член-кореспондент АН України
В.П.Тарабрін

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук
К.С.Ткачук
кандидат біологічних наук
І.В.Коосаківська

Провідна установа: Ботанічний сад ім.О.В.Фомина
Київського університету

Захист відбудеться " 28 " жовтня 1993 року о 10 год.
на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 016.57.01 по захисту
дисертації на здобуття наукового ступеня доктора наук
при Інституті фізіології рослин і генетики АН України
за адресою: 252022, Київ 22, вул.Васильківська, 31/17.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту
фізіології рослин і генетики АН України.

Автореферат розісланий " 27 " вересня 1993 року

ЛНБ України ім.В.Стефаніка



00802962 (R)

Вчений секретар спеціалізованої
вченої ради

В.А. Труханов В.А. Труханов

ЛНБ ім. В. Стефаніка
АН України

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ.

Актуальність досліджень. Розвиток промислового комплексу викликає забруднення природи пиловими викидами, до складу яких входять і важкі метали. Забруднення останніми повітря, водоймищ, ґрунту веде до змін різних фізіологічних і біохімічних процесів рослинного організму (Кабата - Пендіас, Пендіас, 1989; Тарабрін, Пельтіхіна, 1985). Потрапляючи в корені і листя, важкі метали негативно впливають на фотосинтез і продуктивність рослин. Забруднення навколишнього середовища важкими металами призводить до зміни експресії генів у рослинному організмі і синтезу стресових білків. Синтез стресових білків - один з багатьох процесів, що забезпечує життєдіяльність рослин в умовах дії стрес-факторів. Вивчення стресових поліпептидів та їх генів широко проводиться в США, Канаді, Англії (Bonham - Smith et al., 1988; Kimpel, Key, 1985, Laszlo, 1988). У нашій країні основна частина робіт з цієї тематики стосується теплового шоку і відповідних білків (БТШ) (Войников, 1988; Косаковская, 1988).

З металів, що сприяють синтезу стресових білків (Cd^{2+} , Hg^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+}), найбільша увага приділяється Cd^{2+} (Срагнека et al., 1985; Edelman et al., 1988). Дослідження впливу іонів міді і цинку на синтез стресових білків вивчене значно менше, тому саме ці метали були вибрані як стресові фактори при вивченні їх впливу на білоксинтезуючу систему рослинного організму.

Мета і завдання досліджень. Головною метою даної роботи було вивчення впливу важких металів (міді та цинку) на синтез стресових білків. Відповідно були окреслені наступні завдання:

1. З'ясувати залежність синтезу стресових білків та білків, що синтезуються в нормальних умовах, від концентрації міді та цинку.

2. Порівняти синтези білків теплового шоку і білків, індукованих важкими металами.

3. Вивчити реакції білоксинтезуючої системи рослин на короткотермінову дію токсичних концентрацій міді та цинку.

4. Порівняти довго- і короткочасний вплив важких металів на синтез стресових білків.

5. Дослідити зміни в синтезі стресових білків при одночасній дії різних стресових факторів.

Наукова новизна. В результаті проведених досліджень були:

- визначені концентрації важких металів, що зумовляють активність синтезу стресових білків та інгібування цього процесу;
- вперше показано, що на відміну від теплового шоку (більш сильного стресового фактору), зміни, викликані важкими металами, торкаються лише кількісних характеристик процесу синтезу стресових білків, не впливаючи на якісний склад синтезованих поліпептидів;
- вперше з'ясовано, що спільна дія іонів міді і теплового шоку сприяє посиленню інтенсивності синтезу окремих білків теплового шоку як високо-, так і низькомолекулярної фракцій;
- встановлено, що короткочасна дія токсичних концентрацій металів призводить до незворотніх змін в білоксинтезуючій системі рослинного організму;
- вперше показано, що довготермінова дія важких металів в концентраціях, активуючих синтез стресових білків, викликає зниження інтенсивності білкового синтезу;
- виявлено, що олігонуклеотиди, інгібуючи білковий синтез в тваринних організмах, викликають значний синтез рослинних стресових білків, котрий частково зменшується під дією токсичних концентрацій металів.

Теоретичне і практичне значення. Результати досліджень розширюють існуючі знання про вплив важких металів на рослинний організм. Одержані дані можуть бути використані при створенні і пошуку селекційного матеріалу з високим адаптивним потенціалом до умов забруднення навколишнього середовища важкими металами.

Апробація роботи. Основні результати досліджень доповідались на конференції молодих вчених "Изучение, охрана и рациональное использование природных ресурсов" (Уфа, 1989), I Всесоюзній науковій конференції "Растения и промышленная среда" (Дніпропетровськ, 1990), республіканській науковій конференції "Промышленная ботаника: состояние и перспективы развития" (Донецьк, 1990). В закінченному вигляді робота апробована на засіданнях лабораторії стійкості рослин та вченої ради Донецького ботанічного саду АН України.

Публікації. По матеріалах дисертації опубліковано 6 робіт.

Структура і об'єм дисертації. До складу дисертації входить вступ, огляд літератури, експериментальна частина, заключення, висновки, список літератури (156 джерел, включаючи 101 іноземний). Загальний об'єм роботи 146 сторінок. Дисертація ілюстрована 3 таблицями, 21 малюнком, 21 фотографією.

ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.

Виходячи з необхідності генетичної однорідності рослинного матеріалу, об'єктами досліджень були вибрані сорти пшениці - озима Донецька 46, яра - Саратовська 29. В роботі використовували корені дводенних етиологованих інтактних проростків, а також листя 14-денних рослин.

Стресовими факторами виступали іони міді та цинку з сполук $\text{CuSO}_4 \cdot x \text{H}_2\text{O}$, $\text{CuCl}_2 \cdot x \text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot x \text{H}_2\text{O}$, ZnCl_2 .

Експозицій інтактних проростків пшениці на розчинах солей міді та цинку проводили згідно Bonham-Smith et al. (1987). Відрізки листя (2 см.) експонували на розчинах солей металів згідно Winter et al. (1989), а на розчинах інших хімічних речовин - за Кулаєвою и др. (1989).

Екстракції стресових білків та визначення вкличення радіоактивної мітки ^{35}S -метіоніну здійснювали за методом Lin et al. (1984). Вміст білка у пробі визначали за методом Esen (1978).

Зразки білка аналізували одномірним електрофорезом у градієнтному гелі з додецилсульфатом натрію (ПААГ-ДДС-Na) згідно Laemmli (1970). Двомірний електрофоретичний розділ білків проводили згідно O'Farrell (1975) з незначними модифікаціями (Остерман, 1983). Кількість білка, що аналізували електрофорезом, вирівнювали по радіоактивності або по сумарній кількості. Як мітки використовували білки з молекулярними масами: фосфорилаза А - 94 кД, бичий сироваточний альбумін - 67 кД, овальбумін - 43 кД, карбоангідраза - 30 кД, трипсин - 20 кД, альбумін - 14,4 кД. Флюорографію одержаних гелів проводили по Bonner, Laskey (1974).

Метод визначення молекулярної маси стресових білків був модифікований (Тсеkanovskii, Pastukhova, 1991). Для вивчення маси стресового білка в результаті математичних перетворень була виведена формула, побудована таблиця визначення молекулярної маси невідомого білка. Математичну обробку результатів досліджень проводили згідно Плохинського (1970).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ.

Вплив різних концентрацій важких металів на синтез стресових білків Завданням даного розділу було дослідження змін в синтезі стресових білків, а також в процесах поглинання міче-

ної амінокислоти та її включення до складу поліпептидів під дією важких металів різних концентрацій. Оскільки, включення ³⁵S - метіоніну до складу поліпептидів не завжди прямо пов'язане з дією стресу на білосинтезуючу систему організму, а може бути наслідком впливу стресу на проникність мембран для мічених попередників (Бочарова и др., 1987), безпосередню дію металів на синтез стресових білків оцінювали з використанням даних залежності проценту включення мітки до поглинання.

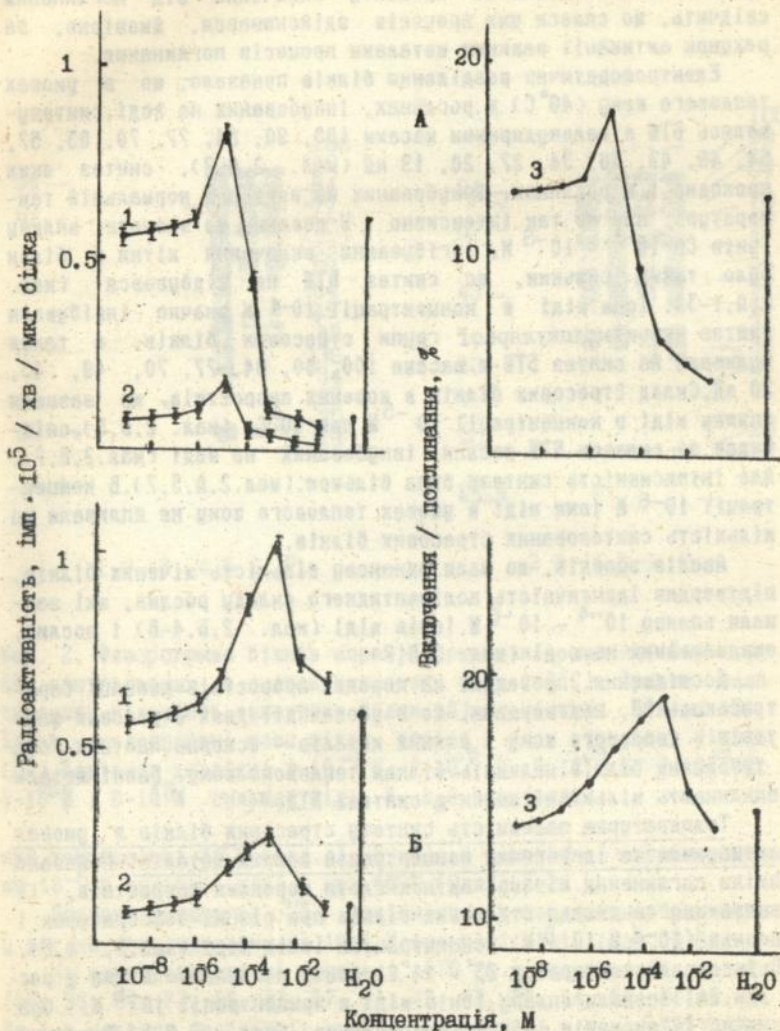
В коренях проростків Саратовська 29 іони міді в концентрації 10^{-1} - 10^{-3} М значно (в 6-7 раз), а 10^{-4} М менше інгібували поглинання міченої амінокислоти. Даний процес не змінювався відносно контролю під впливом концентрації міді 10^{-6} - 10^{-9} М. Залежність включення метіоніну до складу стресових білків від концентрації іонів міді була аналогічна поглинанню (мал.1,А,2). Результати залежності проценту включення мітки в білок до її поглинання від концентрації міді підтвердили активуючу та інгібуючу концентрації іонів міді (мал.1,А,3).

Електрофоретичне розділення білків показало, що найбільш чутливою до іонів міді була група низькомолекулярних стресових білків. На синтез високомолекулярних поліпептидів дія міді, як інгібітора, поширюється в меншій мірі. Якісний склад білків, синтезованих під впливом міді в концентрації 10^{-5} М, не відрізнявся від білків контрольних рослин.

Аналіз отриманих даних про вплив іонів цинку на синтез стресових білків підтвердив меншу фітотоксичність цинку порівняно з міддю (мал. 1,Б). Іони цинку в концентрації 10^{-1} - 10^{-2} М не здійснюють сильного інгібування білкового синтезу. Максимум поглинання мітки спостерігали при концентрації 10^{-3} М. Отримані результати підтверджені електрофорезом. Як і в випадку з іонами міді, під впливом іонів цинку змінювався лише рівень синтезу стресових білків.

Результати дослідів по вивченні впливу різних концентрацій міді і цинку на синтез стресових білків в коренях проростків пшениці Донецька 46 були схожими з вищезгаданими: активація та інгібування синтезу стресових білків відбувається при тих же концентраціях міді та цинку.

Вплив важких металів на синтез стресових білків в умовах підвищених температур. Встановлено, що при спільній дії теплового шоку і важких металів рівень поглинання і включення мітки до складу стресових білків підвищувався в порівнянні з рослинами, які зазнали впливу важких металів при нормальній темпера-



Мал. 1. Залежність поглинання (1), вклицення (2), проценту вклицення від поглинання (3) ^{35}S -метіоніну в коренях проростків пшениці Саратовська 29 від концентрації сульфату міді (А) та сульфату цинку (Б).

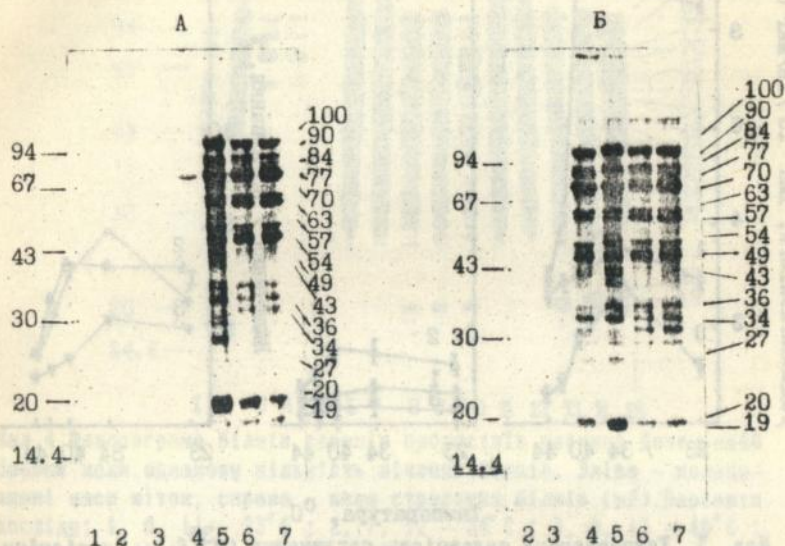
турі. Та аналіз даних по проценту включення від поглинання свідчить, що сплеск цих процесів здійснювався, ймовірно, за рахунок активації важкими металами процесів поглинання.

Електрофоретичне розділення білків показало, що в умовах теплового шоку (40°C) в рослинах, інкубованих на воді, синтезувалися БТШ з молекулярними масами 100, 90, 84, 77, 70, 63, 57, 54, 49, 43, 36, 34, 27, 20, 19 кД (мал. 2,А,7), синтез яких проходив і в рослинах, інкубованих на воді при нормальній температурі, але не так інтенсивно. У рослин, що зазнали впливу іонів $\text{Cu}^{2+} 10^{-1} - 10^{-3}$ М, інгібування включення мітки в білок було таким сильним, що синтез БТШ не відбувався (мал. 2,А,1-3). Іони міді в концентрації 10^{-4} М значно інгібували синтез низькомолекулярної групи стресових білків, а також впливали на синтез БТШ з масами 100, 90, 84, 77, 70, 49, 43, 20 кД. Склад стресових білків в коренях проростків, що зазнали впливу міді в концентрації 10^{-5} М при 40°C (мал. 2,Б,5), співпадав зі складом БТШ рослин, інкубованих на воді (мал. 2,Б,7). Але інтенсивність синтезу була більшою (мал. 2,А,5,7). В концентрації 10^{-6} М іони міді в умовах теплового шоку не впливали на кількість синтезованих стресових білків.

Аналіз зразків, що мали однакову кількість мічених білків, підтвердив ідентичність поліпептидного складу рослин, які зазнали впливу $10^{-4} - 10^{-6}$ М іонів міді (мал. 2,Б,4-6) і рослин, експонованих на воді (мал. 2,Б,7).

Дослідження, проведені на коренях проростків пшениці Саратовська - 29, підтвердили, що в умовах дії двох стресових факторів - теплового шоку і важких металів - основна частина синтезованих білків належить білкам теплового шоку. Важкі метали викликають кількісні зміни в синтезі БТШ.

Температурна залежність синтезу стресових білків в умовах активуючих та інгібуєчих концентрацій важких металів. Показано зміни поглинання міченої амінокислоти коренями проростків, її включення до складу стресових білків при різних температурах і певних (10^{-4} М, 10^{-5} М) концентраціях іонів міді (мал. 3, А,Б). В інтервалі температур $23^{\circ} - 44^{\circ}\text{C}$ процес поглинання мітки у рослин, які зазнали впливу іонів міді в концентрації 10^{-5} М, був значно інтенсивнім, ніж у контрольних (мал. 3,А,2). Максимум включення метіоніну і у рослин, експонованих на воді (мал. 3,Б,1), і у експонованих на 10^{-4} М сульфаті міді спостерігали

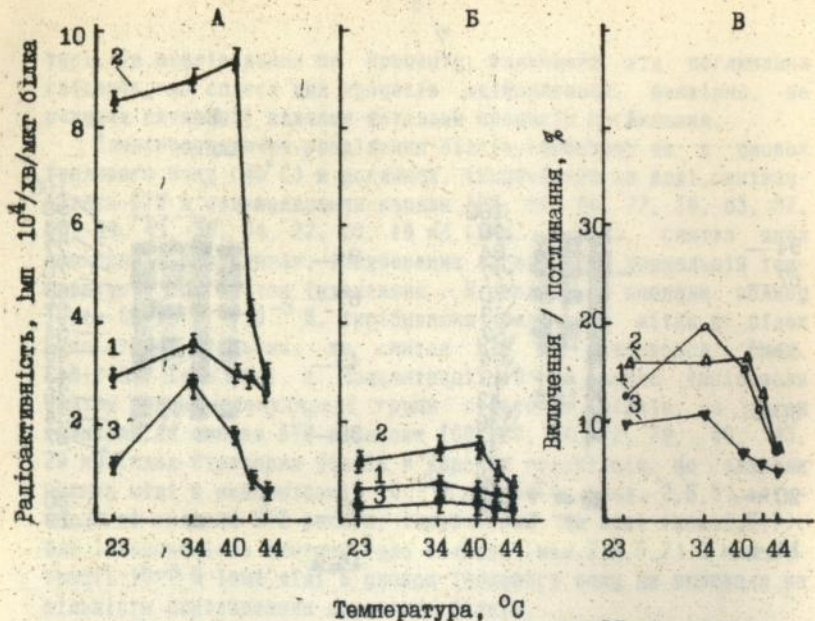


Мал. 2. Флюорограма білків коренів проростків пшениці Донецька 46, синтезованих в умовах теплового шоку ($40^{\circ}C$). Зразки мали однакову кількість сумарного білка (А) і мічених білків (Б). Зліва - молекулярні маси міток, справа - маси стресових білків (кД). Варіанти дослідів: 1- 10^{-1} М, 2- 10^{-2} М, 3- 10^{-3} М, 4- 10^{-4} М, 5- 10^{-5} М, 6- 10^{-6} М сульфат міді, 7- H_2O (контроль).

при температурі $34^{\circ}C$ (мал. 3, Б, 3), а у рослин, експонованих на 10^{-5} М сульфаті міді - при $40^{\circ}C$ (мал. 3, Б, 2).

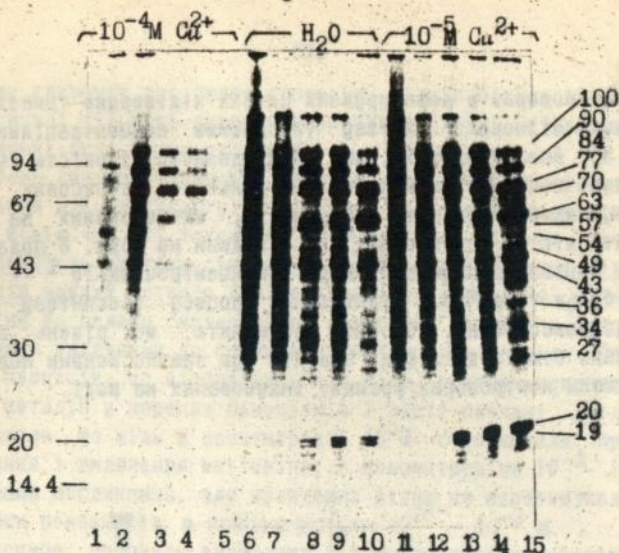
Процент вкличчення ^{35}S - метіоніну від поглинання був вищим у рослин, експонованих на 10^{-5} М сульфаті міді (мал. 3, Б).

На електрофореграмі виявлені БТМ з молекулярними масами 100, 90, 84, 77, 70, 63, 57, 54, 49, 43, 36, 34, 27, 20, 19 кД. Як і в коренях проростків гарбуза (Бурханова и др., 1988), інтенсивність синтезу окремих БТМ в коренях проростків пшениці відрізнялась при різних температурах (електрофоретичне розділення зразків, що мали однакову кількість сумарного білка). Отримані дані підтвердили конститутивність процесу синтезу



Мал. 3. Температурна залежність поглинання (^{35}S - метіоніну) вклучення його в білок (Б), процент вилучення від поглинання (В) в коренях проростків пшениці Донецька 46 на воді (1), розчинах сульфату міді 10^{-5} М (2), 10^{-4} М (3).

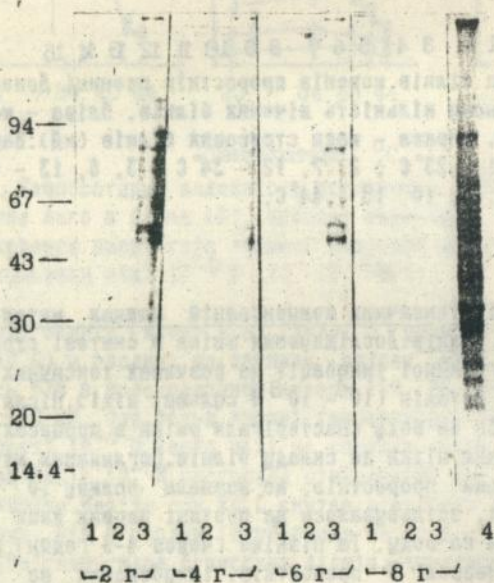
стресових білків (Nover et al, 1984). В умовах теплового шоку (34°C , 40°C) у рослин, що зазнали впливу міді 10^{-4} М, синтезувались БТН з молекулярними масами 100, 90, 84, 77, 70, 49, 43, 20, 19 кД. Але більш високі температури (42°C , 44°C) в присутності 10^{-4} М іонів міді не сприяли синтезу БТН. Іони міді в концентрації 10^{-5} М виступали стимулюючим фактором для білкового синтезу. Навіть при 44°C синтез стресових білків був інтенсивнішим, ніж у рослин інкубованих на воді при тій же температурі. Якісний склад стресових білків, синтезованих в умовах теплового шоку, у проростків, інкубованих на воді і розчині 10^{-5} М сульфату міді, не відрізнявся. Це підтвердило електрофоретичне розділення зразків, вирівняних по радіоактивності (мал 4).



Мал.4 Флуорограма білків коренів проростків пшениці Донецька46
Зразки мали однакову кількість мічених білків. Зліва - молекулярні маси міток, справа - маси стресових білків (кД). Варіанти досліджу: 1, 6, 11 - $23^{\circ}C$; 2, 7, 12 - $34^{\circ}C$; 3, 8, 13 - $40^{\circ}C$; 4, 9, 14 - $42^{\circ}C$; 5, 10, 15 - $44^{\circ}C$.

Тривалість дії токсичних концентрацій важких металів на синтез стресових білків. Досліджували зміни в синтезі стресових білків після двогодинної інкубації на розчинах токсичних концентрацій важких металів (10^{-1} - 10^{-3} M сульфат міді). Після перенесення проростків на воду спостерігали зміни в процесах поглинання і вклучення мітки до складу білків. Поглинання міченого метіоніну коренями проростків, що зазнали впливу 10^{-1} M і 10^{-2} M іонів міді, збільшувалось на протязі перших двох годин після перенесення на воду. Та пізніше (через 4-6 годин) рівень поглинання зменшувався. У проростків, інкубованих на 10^{-3} M іонів міді, поглинання досягало максимуму через 4 години після перенесення на воду. Але, як і в попередніх випадках, подальше перебування проростків на воді не стимулювало надходження мітки. Рівень поглинання знижувався. Аналогічна закономірність характеризувала і вклучення мітки до складу білків.

Електрофорез в денатуруючих умовах підтвердив тривале інгібування білкового синтезу токсичними концентраціями міді (мал. 5). Аналіз зразків, які мали однакову кількість сумарного білка, показав, що максимальна кількість стресових білків синтезувалась в коренях проростків, експонованих на 10^{-3} М сульфаті міді і перенесених на 2 години на воду. В подальшому рівень синтезу знижувався. Мідь в концентраціях 10^{-1} - 10^{-2} М діяла більш токсично і відновлення процесу біосинтезу білків не відбувалось (мал. 5). Слід зазначити, що рівень синтезу стресових білків дослідних зразків був значно меншим порівняно з синтезом контрольних рослин, інкубованих на воді.



Мал. 5. Флюорограма мічених 35 S - метіоніном білків коренів проростків пшениці Саратовська 29, фракціонованих ПААГ-ДДС-На електрофорезом (7,5 - 15 % градієнт). Зразки мали однакову кількість сумарного білка. Зліва вказані молекулярні маси білків (кД). Варіанти дослідів: 1- 10^{-1} М, 2- 10^{-2} М, 3- 10^{-3} М - сульфат міді; 4 - H_2O .

Якщо говорити про склад стресових білків, більшу чутливість до токсичної дії міді виявили низькомолекулярні білки. Високомолекулярні були більш стійкими.

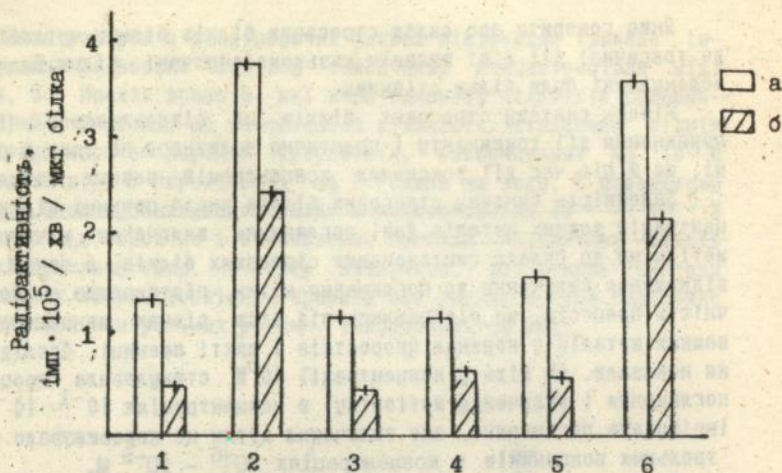
Рівень синтезу стресових білків не відновлювався після припинення дії токсиканту і практично залишився на тому ж рівні, що й під час дії токсичних концентрацій важких металів.

Залежність синтезу стресових білків листя пшениці від концентрацій важких металів. Дані поглинання, включення міченого метіоніну до складу синтезованих стресових білків, а також про відношення включення до поглинання мітки, підтвердили аналогічність процесів, що відбувались під дією різних концентрацій важких металів у коренях проростків і листі пшениці. Дослідження показали, що мідь у концентрації 10^5 М стимулювала процес поглинання і включення метіоніну; в концентраціях 10^{-1} - 10^{-4} М інгібувала поглинання, але включення мітки не перевищувало контрольних показників в концентраціях 10^{-6} - 10^{-9} М.

Максимум проценту включення від поглинання спостерігали у рослин, які зазнали впливу міді в концентрації 10^5 М. Та оскільки цей показник не відрізнявся від контрольного, говорити про стимуляцію біосинтезу стресових білків у листі пшениці під дією 10^{-5} М іонів міді не можливо, про що і свідчили дані електрофоретичного аналізу. Іони міді в концентраціях 10^{-1} - 10^{-3} М сильно, 10^{-4} М - частково інгібували синтез стресових білків у листі пшениці, в той час як більш низькі концентрації не впливали на процес біосинтезу.

Залежність синтезу стресових білків від терміну дії важких металів. Аналізували дані про зміни в процесі синтезу стресових білків при коротко- і довготривалому (відповідно 2 г. і 24 г.) впливу іонів міді в концентраціях 10^4 М і 10^5 М. Результати засвідчили, що при 24 - годинній дії важких металів інгібуючу дію на біохімічні процеси в листі пшениці здійснюють іони міді навіть в концентрації 10^{-5} М. Можливо, причина цього явища полягає в накопиченні металів в компартментах клітини і впливу вже в значно більших дозах на всі клітинні процеси, що не спостерігалось при короткочасній дії (Кабата-Пендіас, Пендіас, 1989).

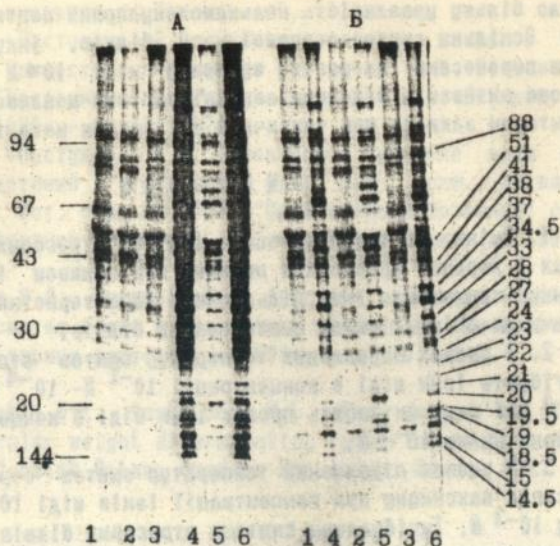
Вплив олігонуклеотидів на синтез стресових білків в умовах дії важких металів. Дослідження впливу різних хімічних речовин на рослинний організм показало, що відносно рослинних клітин 2-5 олігоаденілати (2-5A) виступають як стресовий фактор (Бурханова и др., 1988). Оскільки специфічність стресових білків в значній мірі відносна (Войников и др., 1984), припускають, що



Мал. 6. Залежність поглинання (а) ^{35}S -метіоніну і його включення (б) в білки листя Саратовська 20 від інкубаційного середовища: 1 - H_2O (20г); 2 - 2-5 А (20г); 3 - H_2O (24 г) + 10^{-5}M Cu^{2+} (2г); 4 - 2-5А (24г) + 10^{-5}M Cu^{2+} (2г); 5 - H_2O (24г) + 10^{-5}M Cu^{2+} (2г); 6 - 2-5А (24г) + 10^{-5}M Cu^{2+} (2г).

рослини, попередньо оброблені 2-5 А, будуть більш стійкими до токсичної дії важких металів. Отримані нами результати показують, що перенесення листя з розчину 2-5 А на розчин сульфату міді в концентрації 10^{-4}M сприяло зменшенню рівней поглинання і включення міченого метіоніну в листях, більш ніж в 3 рази (мал. 6;4). Рівні поглинання і включення міченого метіоніну в листях, інкубованих на 10^{-5}M міді після попередньої на 2-5 А, перевищували аналогічні показники контрольних рослин і рослин, інкубованих на 10^{-5}M розчині сульфату міді (мал. 6,8). Безпосередній вплив 2-5 А на синтез стресових білків підтвердили дані про відношення включення до поглинання, а також електрофорез білків (мал.7).

В результаті дії 2-5 А спостерігали активацію синтезу як низько-, так і високомолекулярних стресових білків. Більш чутливою до впливу 2-5А була група низькомолекулярних білків (14-30 кД) (мал. 7.А,Б,4). Щодо високомолекулярних білків, більшість з яких синтезувалась конститутивно, під впливом 2-5А змінювалась лише інтенсивність їх синтезу.



Мал.7. Флюорограма ПААГ-ДАС-На-електрофорезу сумарних білків листя пшениці Саратовська 29. Варіанти досліду вирівняні по кількості білка (А) і радіоактивності (Б): 1 - H_2O (28г); 2 - H_2O (24г) + 10^{-4} М Cu^{2+} (2г); 4 - 2-5А(28г); 5 - 2-5А(24г) + 10^{-4} М Cu^{2+} (2г); 6 - 2-5А(24г) + 10^{-5} М Cu^{2+} (2г). Зліва - молекулярні маси міток, справа - маси стресових білків. 3 - H_2O (24г) + 10^{-5} М Cu^{2+} (2г).

Листя, перенесені з 2-5А на 10^{-4} М сульфат міді, мали більш широкий набір білків порівняно з контролем (мал. 7, А, Б, 5). Але кількість і інтенсивність їх синтезу були меншими в порівнянні з листям, інкубованими на 2-5 А або на 10^{-5} М сульфаті міді після 2-5А. Виявлені білки, синтез яких не спостерігався в контролі. Це поліпептиди з молекулярними масами 14,5, 15, 18,5, 19, 19,5, 20, 21, 22, 23, 24, 27, 28, 33, 34,5, 37, 38 кД, а також 41, 88, 51 кД (мал. 7).

Використання двовимірного електрофорезу (ІЕФ-ПААГ-ДАС-На) дозволило провести більш повний розподіл білків. Максимальну кількість ізоформ спостерігали в листі, інкубованому на 2-5А. Причому, інтенсивність їх синтезу перевищувала всі інші варіанти. Листя, інкубовані на розчині сульфату міді в концентрації 10^{-4} М, мали найменшу кількість ізоформ і основну частину їх складала білки з високою молекулярною масою. Це також підтвер-

дило більшу ураєливість низькомолекулярних пептидів.

Оскільки синтез основної маси білків, індукований 2-5A, при перенесенні на розчин сульфату міді 10^{-4} M зберігається, схожа активація білоксинтезуючої системи можливо зможе слугити фактором захисту при токсичній дії важких металів.

В И С Н О В К И

1. Зміни, що відбуваються в синтезі стресових білків, листках і коренях проростків пшениці під впливом іонів міді та цинку, торкаються лише кількісних характеристик процесу, не діючи на якісний склад синтезованих білків.

2. В умовах нормальних температур синтез стресових білків інгібують іони міді в концентрації 10^{-1} M- 10^{-4} M, іони цинку 10^{-1} M і вище. Активують процес іони міді в концентрації 10^{-5} M і іони цинку 10^{-3} M.

3. В умовах підвищених температур синтез стресових білків досягає максимуму при концентрації іонів міді 10^{-5} M, іонів цинку 10^{-3} M. Інгібування синтезу стресових білків в умовах теплового шоку викликають іони міді в концентрації 10^{-4} M і вище, іонів цинку - 10^{-4} M. В умовах теплового шоку важкі метали посилюють інтенсивність синтезу окремих білків теплового шоку (10^{-5} M Cu²⁺).

4. Інгібувчий ефект важких металів як в умовах нормальних, так і підвищених температур, в більшій мірі проявляється в синтезі низькомолекулярних білків.

5. Токсичні концентрації важких металів викликають незворотні зміни білкового синтезу. Білковий синтез, після закінчення дії стрес-фактору, не відновлюється до початкового рівня.

6. Тривалий вплив важких металів в невисоких концентраціях (10^{-5} M) зменшує кількість синтезованих білків.

7. Олігонуклеотиди, індукуючи синтез стресових білків, в умовах дії інгібуючих концентрацій металів, сприяють збереженню синтезу основної маси стресових білків.

По матеріалам дисертації опубліковано 6 праць:

1. Пищулина (Пастухова) Н.А. Влияние тяжелых металлов на растения // Тез. докл. науч. конф. "Изучение, охрана и рациональное использование природных ресурсов". - Уфа: ВЦ УрО АН СССР. - 1989. - С. 27.

2. Пищулина (Пастухова) Н.А. Выделение и анализ гетероген-

ности гистонов кукурузы // Там же. - С. 101.

3. Пищулина (Пастухова) Н.Л. Действие тяжелых металлов на синтез белка в проростках пшеницы // Тез. докл. 1-й Всесоюз. научн. конф.: "Растения и промышленная среда". - Днепропетровск: ДГУ. - 1990. - С. 123-124.

4. Пищулина (Пастухова) Н.Л. Токсическое действие меди на синтез белка растений // Тез. докл. респ. науч. конф., посвящ. 25-летию Донец. бот. сада АН УССР: "Промышленная ботаника: состояние и перспективы развития". - Киев: Наук. думка. - 1990. С. 139 - 140.

5. Пастухова Н.Л., Тарабрин В.П. Действие теплового шока и ионов меди на синтез белка в проростках пшеницы // Физиология и биохимия культурных растений. - 1991. - Т.23, N-5. - С. 486-490.

6. Tsekanovskii V.E., Pastukhova N.L. The method of the protein's molecular weight determination (preprint of the article) // The Donetsk Botan. Gardens Ukrainian Acad. Sci. - 1991. - 15 p.

Підп. до друку 28.07.93
Офс. печ. Чм. печ. л.

Формат 60x84/16 Папір тип.
Тираж 100 екз. Заказ N 1143

Відруковано в Інституті економіки промисловості АН України
340048 м.Донецьк, вул. Університетська, 77

463631

AB 28.206

AB 28.206