

Суммируя полученные результаты, можно сделать вывод о том, что термоинактивация антител является двухстадийным процессом (причем первая стадия обратимая, а вторая — необратимая), который может быть описан с помощью так называемой последовательной модели.

#### DYNAMICS AND MECHANISM OF THE ANTIBODY THERMOINACTIVATION

*S. A. Bobrovnik, N. F. Starodub*

Institute of Molecular Biology and Genetics,  
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

#### Summary

It is shown that the kinetic plots of the antibody thermoinactivation in semilogarithmic scale are approximated by two straight lines intersecting at a certain angle. The model of the antibody thermoinactivation process is proposed. Both the kinetic characteristics of the process studied at various temperatures and its thermodynamic parameters are calculated.

1. *Bobrovnik S. A.* Enumeration of specific antibody-forming cells by the immunofluorescent imprint technique // *EOS J. Immunol. and Immunopharmacol.*—1986.—15, N 3.—P. 178—182.
2. *Gripenberg M., Kurki P.* Demonstration of human autoantibodies by quantitative enzyme immunoassays // *J. Immunol. Meth.*—1986.—92, N 2.—P. 145—159.
3. *Makkur T. K. S.* Thermodynamics of hapten-antibody interactions // *CRC Crit. Rev. Biochem.*—1985.—16, N 2.—P. 133—167.
4. *Бобровник С. А.* Определение констант скорости некоторых биэкспоненциальных биологических процессов // *Биополимеры и клетка.*—1987.—3, № 4.—С. 245—250.
5. *Диксон М., Уэбб Э.* Ферменты.—М.: Мир, 1966.—816 с.

Ин-т молекуляр. биологии  
и генетики АН УССР, Киев

Получено 02.03.87

УДК 576.311.346.2

#### ИНАКТИВАЦИЯ ЦЕНТРОСОМ В МИТОЗЕ ЛАЗЕРНЫМ МИКРООБЛУЧЕНИЕМ

**И. А. Воробьев, В. А. Драчев, Ю. С. Ченцов**

**Введение.** Для выяснения роли центриолей в митозе в 70-х годах группой исследователей под руководством М. Бернса были предприняты эксперименты по лазерному микрооблучению центросом [1—4]. Результаты этих экспериментов неоднозначны, что может быть связано как с использованием различных лазеров (непрерывные или импульсные, длины волн от 265 до 514 нм), так и с различным поведением клеток, облучаемых на разных стадиях митоза. Главный вывод из работ Бернса с соавт. состоит в том, что облучение центросомы в профазе, приводящее к разрушению или повреждению перичентриолярного материала, влечет за собой остановку митоза в промета- или в метафазе с последующим аномальным цитокинезом. Невыясненным остается вопрос о судьбе клеток, чьи центросомы перестают функционировать позднее — в прометафазе и метафазе.

В настоящее время роль центросомы как центра организации микротрубочек может считаться доказанной [5], причем известно, что рост микротрубочек индуцируется перичентриолярным материалом, но не самими центриолями. Таким образом, на сегодня мы не можем ничего

определенного сказать о роли собственно центриолей в клеточном делении. Более того, ряд электронно-микроскопических работ показал, что и в животных клетках центриоли могут отсутствовать в полюсах митотической фигуры [6—8]. Можно констатировать, что, начиная с работ Пикетт — Хипса [9, 10], роль центриолей как таковых в клетке становится все менее понятной.

Исследованию возможных функций centrosомы, не связанных непосредственно с образованием микротрубочек, посвящена настоящая работа.

**Материалы и методы.** Эксперименты проводили на эпителиальных клетках почки кенгуровой крысы (линия  $PtK_1$ ). Клетки выращивали на покровных стеклах в среде Игла с добавлением 10 %-ной эмбриональной телячьей сыворотки. Прижизненные наблюдения проводили в камерах объемом около 6 мл (в таких камерах клетки сохраняют жизнеспособность и делятся в течение 4—6 сут). Для электронной микроскопии клетки на покровных стеклах непосредственно перед опытом монтировали в ячейку объемом 0,5—0,6 мл. Микрооблучение centrosом производили с помощью аргонного лазера ILA-120 («Carl Zeiss», ГДР) на длине волны 488 нм. Луч лазера фокусировали через фотомикроскоп Ortop-3 («Ortop», ФРГ) объективом планапхромат 100/1,3 в пятно диаметром около 0,3 мкм. Перед облучением в культуральную среду добавляли акридиновый оранжевый в концентрации 0,03—0,05 мкг/мл. Centrosомы, которые были отчетливо видны в фазово-контрастном микроскопе, облучали сфокусированным лазерным лучом 0,2 с. Мощность излучения на входе в установку составляла 0,4—1,0 Вт. Ее подбирали в опытах с расчетом, чтобы при экспозиции в течение 0,5 с в значительной части облучаемых клеток сразу же возникали дырки диаметром около 2 мкм.

Для электронной микроскопии клетки фиксировали через различное время после микрооблучения (от 3 мин до 3 ч), перенося стекла с клетками в 2,5 %-ный раствор глутарового альдегида на 0,1 М фосфатном буфере. Дальнейшая подготовка препаратов для электронной микроскопии была стандартной.

Клетки облучали: а) в средней и поздней профазе; б) в ранней прометафазе — через 2—5 мин после начала метакинетического движения хромосом; в) в поздней прометафазе — метафазе — более чем через 15 мин после начала движения хромосом; г) в анафазе — через 1—2 мин после ее начала. В качестве контроля использовали клетки, облученные в той же дозе в околоядерную область цитоплазмы или в область митотического веретена вне полюсов и хромосом.

**Результаты и обсуждение.** Облучение высокой дозой. Под высокой дозой облучения мы понимаем ту, которая вызывала появление в клетках видимых в световой микроскоп дырок. Такое микрооблучение останавливает деление на любой стадии практически мгновенно. В клетках при этом происходят сильные изменения, свидетельствующие об их гибели. Все видимые в фазово-контрастном микроскопе детали клеток становятся грубее. Изменяется показатель преломления цитоплазмы и хромосом. Увеличивается контрастность митохондрий, которые затем распадаются на мелкие округлые шарики. Мелкие частицы внутри клеток постепенно вовлекаются в броуновское движение.

Облучение низкой дозой. Под низкой мы подразумеваем дозу облучения, не вызывающую в клетках видимых в световой микроскоп повреждений. Облучение в низкой дозе различных участков цитоплазмы, за исключением клеточного центра, никак не сказывалось на ходе деления.

В нормальной клетке  $PtK_1$  митоз длится 60—90 мин. Исходя из этого, мы считали, что задержка митоза произошла, если облученные клетки не завершали деления в течение 2 ч.

В качестве контроля в околоядерную область цитоплазмы (вдали от клеточного центра) было облучено семь клеток на стадии профазы. Все они завершали митоз в течение 1 ч после облучения. Различные аномалии деления наблюдались после облучения centrosом (таблица). Ниже приведено подробное описание наиболее типичных случаев.

Клетки, облученные в профазе. Непосредственно после облучения центросом никаких изменений в поведении клеток не происходит. Нормально протекает распад ядерной оболочки, хромосомы начинают свое метакинетическое движение. Дальнейший ход митоза отличается от обычного: движение хромосом постепенно замедляется, они, как правило, не выстраиваются в метафазную пластинку, а остаются в виде клубка. Через 1,5—3 ч в клетке формируется ядро. При этом клетка сначала несколько поджимается, может выпустить несколько псевдоподий или даже переползти на несколько мкм (рис. 1). Затем облученная клетка расплывается и принимает нормальный вид. От соседних клеток она отличается лишь несколько большими размерами. В некоторых случаях образуется не одно ядро, а

*Результаты облучения клеток на разных стадиях митоза*  
*Results of microirradiation of cells at different stages of mitosis*

Стадия митоза	Количество клеток				
	Реверсия митоза*	Блок митоза**	Аномальный митоз***	Митоз с задержкой****	Нормальный митоз
Профаза	5	23	5	1	1
Прометафаза ранняя	0	7	1	4	0
Прометафаза поздняя	0	0	1	1	2
Метафаза	0	2	0	1	7
Анафаза	0	0	0	0	5

\* — ядерная оболочка не распадается, хромосомы остаются неподвижными и частично декоденсируются в течение 2—3 ч, клетка не поджимается и остается в пласте; \*\* — задержка деления на стадии метафазы; клетка, как правило, приобретает форму шара; цитотомии не наступает в течение 3 ч или более; \*\*\* — митоз с неполным или неправильным расхождением хромосом; клетка поджимается и часто делится на 3—5 неравных фрагментов, которые затем расплываются; \*\*\*\* — отличается от нормально-го деления только тем, что его промета- и метафаза длятся в совокупности 1,5 ч или несколько дольше.

несколько — до шести. В течение 6 ч наблюдения облученные клетки не отличаются по своему поведению от соседних клеток пласта.

Клетки, облученные в ранней прометафазе. Как следует из таблицы, облучение в прометафазе приводит в основном к двум вариантам нарушений митоза. В большинстве случаев после облучения наступает блок митоза, аналогичный развивающемуся в клетках, облученных в профазе. При этом так же, как и в профазе, движение хромосом продолжалось, и иногда они могли выстроиться в метафазную пластинку. Однако время наступления метафазы здесь было значительно большим, чем в контроле — около 1 ч. Соответственно анафаза не наступало, и клетки оставались в виде К-митозов в течение 2—4 ч наблюдения (в дальнейшем они, вероятно, погибали). В тех случаях, когда хромосомы выстраивались в метафазную пластинку за нормальное время (около 15 мин), то деление завершалось, но с некоторым запаздыванием. При этом в анафазе хромосомы расходились на сравнительно небольшое расстояние, так что плечи хромосом I пары почти соприкасались. Цитотомия шла точно посередине между группами хромосом (рис. 2). Образующиеся в результате дочерние ядра оставались в течение примерно 1 ч сближенными по отношению друг к другу вместо того, чтобы занять свои места в центре дочерних клеток.

Клетки, облученные в поздней прометафазе и в метафазе. Облучение клеток в поздней прометафазе и метафазе имело в основном сходные результаты (таблица). Возможно, это связано с тем, что определить начало метафазы при прижизненных наблюдениях в клетках затруднительно. Плечи хромосом постоянно движутся вокруг срединной плоскости, и четко выраженная метафазная пластинка формируется не всегда.

Большинство клеток, облученных на этих стадиях, делится нормально или с некоторой задержкой. Во всех случаях, когда анафаза наступает, митоз завершается нормально. Получающиеся дочерние клетки не отличаются по своему поведению от контрольных. Клетки с облученной и необлученной centrosомами распластывались одновременно и симметрично.

Клетки, облученные в анафазе. Все пять клеток, чьи полюса были облучены в анафазе, завершили деление безо всяких отклонений. Дочерние клетки распластывались нормально. Таким обра-

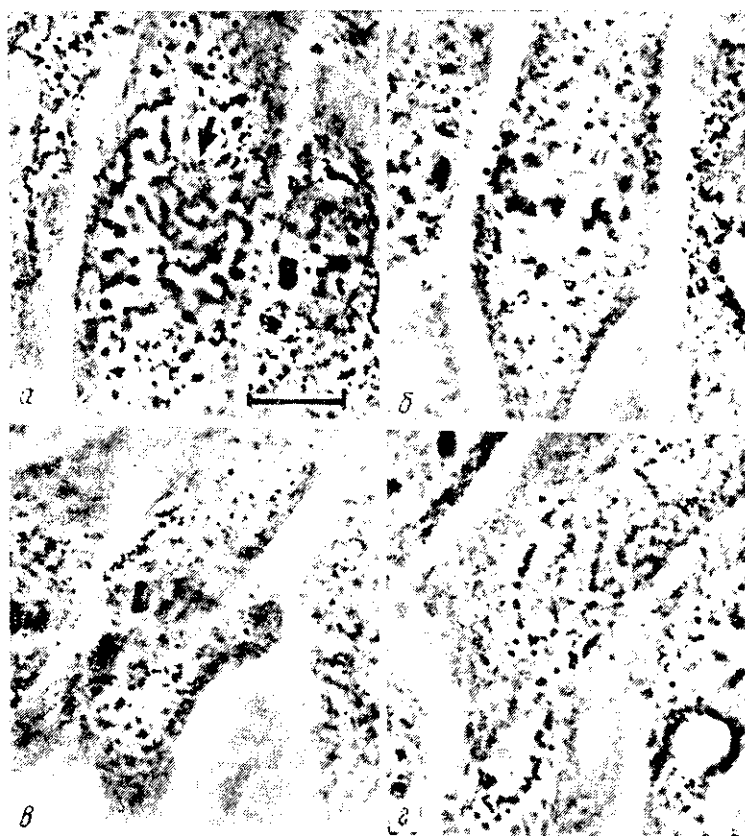


Рис. 1. Клетка, облученная в профазе: *a* — сразу после облучения (стрелкой указан облученный полюс); *b* — через 57; *v* — 94; *z* — 403 мин. Шкала 10 мкм

Fig. 1. The cell irradiated at prophase: *a* — immediately after microirradiation (arrow indicates the irradiated pole); *b* — 57 min later; *v* — 94 min later; *z* — 403 min later. Bar 10  $\mu$ m

зом, облучение centrosомы на этой стадии никак не сказывается на процессе деления. Единственный способ остановить митоз в это время — облучить клетку большой дозой (см. выше).

Ультраструктура облученных клеток. В митотическом полюсе в контрольных клетках находится диплосома, окруженная митотическим гало с отходящими от него микротрубочками. В профазе микротрубочки расходятся строго радиально от материнской центриоли. В промета- и метафазе митотическое гало вокруг диплосом становится неоднородным: в нем можно видеть отдельные сгущения, служащие локальными центрами схождения микротрубочек. Число отходящих от centrosомы микротрубочек при переходе от профазы к прометафазе сильно возрастает. В то же время плотные тельца, называемые часто перичентриолярными сателлитами [11], отсутствуют в большинстве клеток.

Для сравнения ультраструктуры и динамики поведения облученного и необлученного полюсов было отобрано 10 клеток. В каждой из них одна из centrosom была облучена в поздней профазе. Четыре клетки были зафиксированы через 3—5 мин после облучения, три клетки — через 20—60 мин и еще три — через 2—3 ч после облучения.

Во всех случаях строение облученного и необлученного полюсов было совершенно одинаковым (рис. 3). Мы не наблюдали поврежде-

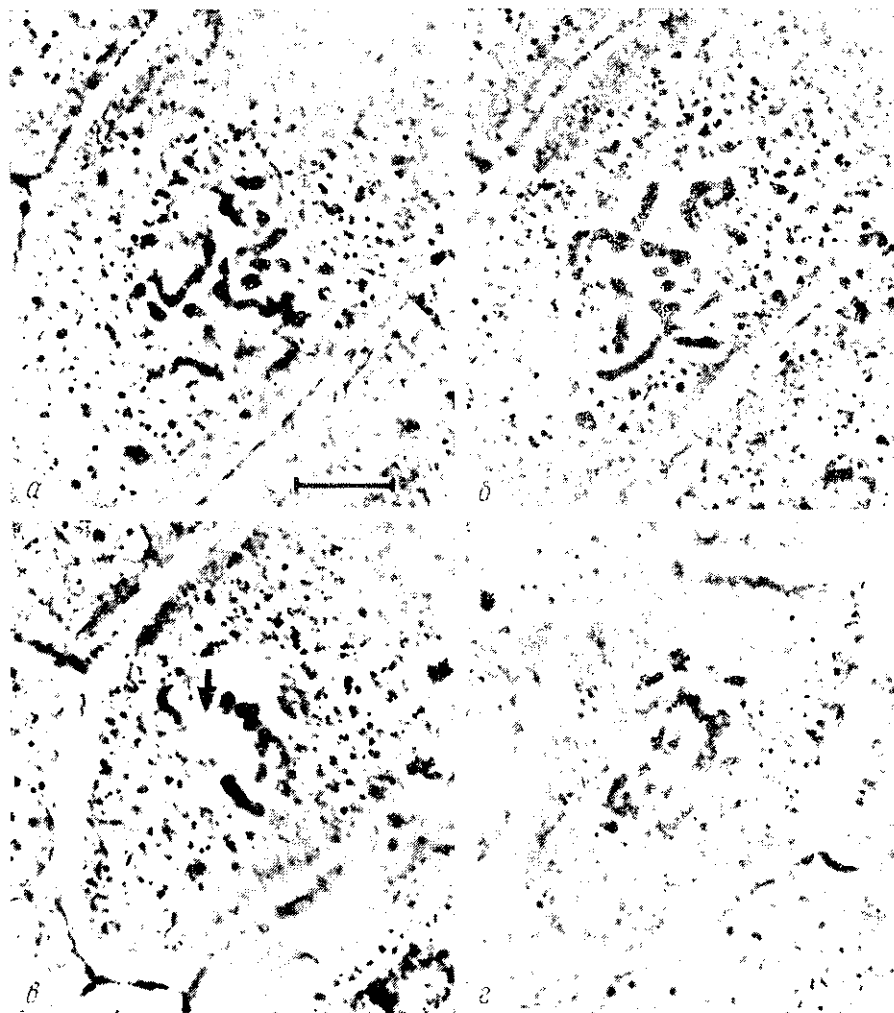


Рис. 2. Клетка, облученная в прометафаза: *a* — сразу после облучения (стрелкой указан облученный полюс); *b* — через 34; *v* — 75; *z* — 116 мин. Шкала 10 мкм

Fig. 2. The cell irradiated at prometaphase: *a* — immediately after microirradiation (arrow indicates the irradiated pole); *b* — 34 min later; *v* — 75 min later; *z* — 116 min later. Bar 10  $\mu$ m

ний или отличий ни в самих центриолях, ни в окружающем их материале. Микротрубочки отходили от обеих centrosom в каждой клетке в эквивалентном количестве. Ориентация хромосом по отношению к обоим полюсам была вполне симметричной. В клетках, зафиксированных в прометафаза, кинетохорные пучки отходили от кинетохоров в направлении как облученного, так и необлученного полюсов. На противоположных (сестринских) кинетохорах микротрубочки отсутствовали.

В клетках, зафиксированных через 2—3 ч после микрооблучения, от каждой из диплосом отходят микротрубочки, но в количестве зна-

чительно меньшем, чем в нормальной прометафазе и в метафазе. Кинетохорных пучков микротрубочек нет; веретено деления как целостная структура отсутствует.

Результаты микрооблучения. Описываемая нами картина остановки митоза после микрооблучения centrosомы в значитель-

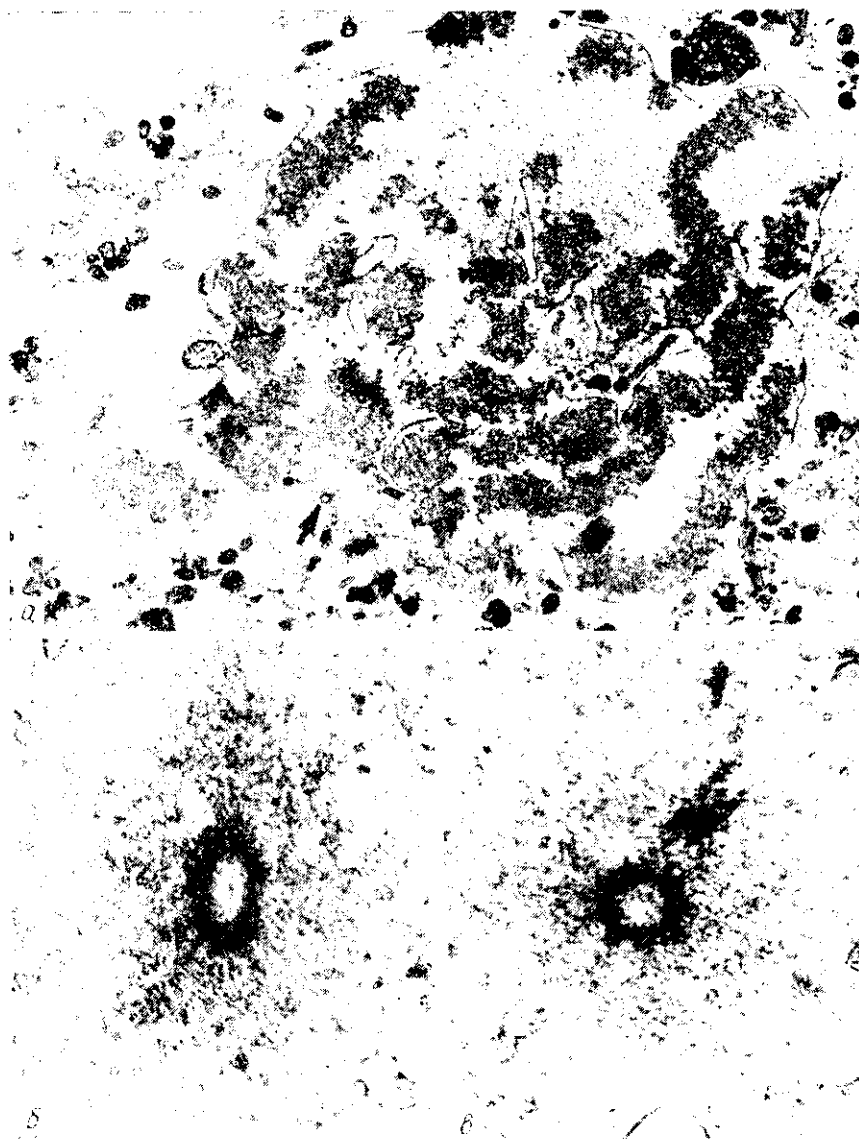


Рис. 3. Общий вид клетки через 2 мин после облучения, стрелкой указан облученный полюс, ув. 8000 (*a*); *b* — необлученный полюс той же клетки, ув. 70 000; *в* — облученный полюс, ув. 70 000

Fig. 3. Ultrathin section of the cell fixed 2 min after microirradiation; arrow indicates the irradiated pole, magnification 8000 X (*a*); *b* — nonirradiated pole of the same cell, magnification 70 000 X; *в* — irradiated pole, magnification 70 000 X

ной степени аналогична той, которую наблюдали Бернс с соавт. [1, 3]. В то же время в наших опытах ультраструктура облученных centrosом не отличается от необлученных в противоположность тому, что наблюдалось ранее [1, 3, 4]. Объяснить причины данных расхождений мы пока не можем. Можно лишь констатировать, что для функциональной перестройки centrosом после микрооблучения нет необходимости в

необратимых ультраструктурных изменениях, и наоборот, по их отсутствию нельзя судить о полной интактности структуры, как это делается, например, в работе [12].

Наиболее интересным нам представляется тот факт, что результаты микрооблучения центросомы зависят от фазы митоза. Облучение никогда не сказывается немедленно, а всегда с задержкой в полчаса и более. Облучение в метафазе (в большинстве случаев) и в анафазе (всегда) не влияет на нормальное завершение деления и цитотомии. Критическим моментом в делении оказывается прометафаза: по результатам микрооблучения ранняя прометафаза существенно отличается от поздней (таблица). Таким образом, результаты настоящей работы указывают на наличие «критической точки» в митозе, которая приходится не на метафазу, как предполагалось ранее [13], а предваряет ее. Возможно, что происхождение «критической точки» связано с двумя процессами, которые в настоящее время описаны в прометафазе: формированием из двух звезд микротрубочек, расходящихся от полюсов, единого митотического аппарата, а также с концентрацией вокруг диплосом белков, участвующих в работе митотических полюсов [14].

Роль центриолей в митозе. Как уже указывалось во введении, роль центриолей в митозе в настоящее время малопонятна. Классические представления о том, что центриоли организуют полюса веретена и, расходясь, определяют ориентацию митотической фигуры, пуждаются в конкретизации. В отношении организации полюсов веретена известно, что роль центров организации микротрубочек выполняет окружающий центриоли электроноплотный материал [5]. Учитывая высокую лабильность микротрубочек в митозе [12, 15], можно предположить, что роль центриолей сводится к тому, чтобы постоянно удерживать вокруг себя центры организации микротрубочек в виде компактной структуры.

Суммируя результаты работ Бернса с соавт. [1, 3, 4] и настоящего исследования, можно заключить, что нормальное функционирование центросом необходимо в первой половине митоза (примерно до середины прометафазы). Если инактивация центриолей происходит позднее, то деление успешно завершается и без них.

Основным доводом в пользу «ненужности» центриолей в митозе являются примеры делений, где центриолей в полюсах нет или они были удалены экспериментально [7, 10]. Но поскольку громадное большинство клеток животных имеют в полюсах веретена пары центриолей, входящих в состав центросом, то данные исключения сами по себе ничего не доказывают. Поэтому закономерен вопрос: исчерпываются ли функции центросомы ее работой как центра организации микротрубочек? Здесь уместно отметить, что в литературе высказывались далеко идущие предположения о роли центриолей во всей жизнедеятельности клетки [16, 17]. Но этим гипотезам не доставало экспериментального подтверждения. В настоящей работе мы прямо показали, что функции центросом в клетке не исчерпываются их ролью как центра организации микротрубочек (по крайней мере в митозе), а центросомы определяют возможность формирования целостного веретена, что в свою очередь определяет все последующие события: образование метафазной пластинки, кортикального сократительного кольца, анафазу, цитотомии и т. д.

Мы полагаем, что центриоли каким-то способом участвуют в организации прохождения всех стадий митоза, но функционируют при этом не как непосредственные исполнители, а как регуляторы. Вероятно, они задают нормальную последовательность событий при делении клеток.

Как известно, митоз может идти и в отсутствие центриолей (в клетках растений, в дробящейся зиготе — [9, 18, 19]). Главное отличие митоза растительной клетки состоит в том, что он занимает несколько

больше времени, чем у животных [13]. Поэтому можно предположить, что если в нормальной животной клетке инактивировать центросому, то митоз задержится на столь долгое время для нее, что включатся иные программы, и клетка перейдет в интерфазу без расхождения хромосом.

Таким образом, в настоящей работе нам удалось наблюдать функциональную активность центросом, не связанную непосредственно с ростом микротрубочек. Она состоит в том, что центросомы определяют способность клетки образовывать из микротрубочек профазных звезд и микротрубочек хромосом целостное митотическое веретено. После формирования веретена деление может завершиться и без участия центросом.

#### INACTIVATION OF CENTROSOMES WITH A LASER MICROIRRADIATION

I. A. Vorobjev, V. A. Drachev, Yu. S. Chentsov

A. N. Belozersky Interfaculty Problem Research Laboratory  
of Molecular Biology and Bioorganic Chemistry, State University, Moscow

#### Summary

Centrosomes of rat kangaroo kidney cells ( $PtK_1$ ) were irradiated with an argon laser microbeam at different stages of mitosis. Microirradiation of one of the centrosomes at prophase resulted in a delay of cells at metaphase. Then the irradiated cells passed directly to interphase. The same microirradiation at the early prometaphase caused irregular cytokinesis without chromosome separation. Microirradiation at late prometaphase and at metaphase did not affect the later stages of mitosis. The electron microscopic studies did not reveal any differences between the irradiated and control centrosomes. The data obtained show that centrosomes are not only the microtubule-organizing centre but they also control the processes of cytokinesis, reorganization of chromosomes, etc.

1. *The role of the centriolar region in animal cell mitosis. A laser microbeam study* / M. W. Berns, J. B. Rattner, S. Brenner, S. Meredith // *J. Cell Biol.*—1977.—72, N 2.— P. 351—367.
2. *Berns M. W., Richardson S. M.* Continuation of mitosis after selective laser microbeam destruction of the centriolar region // *Ibid.*—75, N 3.— P. 977—982.
3. *Peterson S. P., Berns M. W.* Evidence for centriolar region RNA functioning in spindle formation in dividing  $PtK_2$  cells // *J. Cell Sci.*—1978.—34, N 1.— P. 289—301.
4. *Laser microsurgery in cell and developmental biology* / M. W. Berns, J. Aist, J. Edward et al. // *Science.*—1981.—213, N 5406.— P. 505—513.
5. *Воробьев И. А., Надеждина Е. С.* Центриольный аппарат и его роль в организации микротрубочек // *Общ. пробл. физ.-хим. биологии* / Под ред. Ю. С. Ченцова.— М.: ВИНТИ, 1987.— Т. 7.— С. 160.
6. *Szollosi D., Catarco P., Donahue B. P.* Absence of centrioles in the first and second meiotic spindles of mouse oocytes // *J. Cell Sci.*—1972.—11, N 2.— P. 521—541.
7. *The absence of centrioles from spindle poles of rat kangaroo ( $PtK_2$ ) cells undergoing meiotic-like reduction division in vitro* / S. Brenner, A. Branch, S. Meredith, M. W. Berns // *J. Cell Biol.*—1977.—72, N 2.— P. 368—379.
8. *Keryer G., Ris H., Borisy G. G.* Centriole distribution during tripolar mitosis in Chinese hamster ovary cells // *Ibid.*—1984.—98, N 6.— P. 2222—2229.
9. *Pickett-Heaps J. D.* The evolution of the mitotic apparatus: an attempt at comparative ultrastructural cytology in dividing plant cells // *Cytobios.*—1969.—1, N 3.— P. 257—280.
10. *Pickett-Heaps J. D.* The evolution of mitosis and the eukaryotic condition // *Bio-systems.*—1974.—6, N 1.— P. 37—48.
11. *Peterson S. P., Berns M. W.* The centriolar complex // *Int. Rev. Cytol.*—1980.—64.— P. 81—108.
12. *Spindle microtubule dynamics in sea urchin embryos: analysis using a fluorescein-labelled tubulin and measurements of fluorescence redistribution after laser photobleaching* / E. D. Salmon, R. J. Leslie, W. M. Saxton et al. // *J. Cell Biol.*—1984.—99, N 6.— P. 2165—2174.
13. *Мэзия Д.* Митоз и физиология клеточного деления.— М.: Мир, 1963.—426 с.
14. *A novel mitotic spindle pole component that originates from the cytoplasm during prophase* / P. R. Sager, N. L. Rothfield, J. M. Oliver, R. D. Berlin // *J. Cell Biol.*—1986.—103, N 5.— P. 1863—1872.
15. *Tubulin dynamics in cultured mammalian cells* / W. M. Saxton, D. L. Stemple, R. J. Leslie et al. // *Ibid.*—1984.—99, N 6.— P. 2175—2186.



16. Bornens M. The centriole as a gyroscopic oscillator. Implications for cell organization and some other consequences // Biol. Cell.—1979.—35, N 2.—P. 115—132.
17. Albrecht-Buehler G. Does the geometric design of centrioles imply their function? // Cell Motility.—1981.—1, N 2.—P. 237—245.
18. Pickett-Heaps J. D., Tippit D. H., Porter K. R. Rethinking mitosis // Cell.—1982.—29, N 3.—P. 729—744.
19. Behavior of centrosomes during fertilization and cell division in mouse oocytes and in sea urchin eggs / H. Schatten, G. Schatten, D. Mazia et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1986.—83, N 1.—P. 105—109.

Межфакультет. пробл. н.-и. лаб. молекуляр. биологии  
и биоорг. химии им. А. Н. Белозерского,  
МГУ им. М. В. Ломоносова

Получено 25.02.87

УДК 577.255.2:576.311+575:633.63

## СТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА *Beta vulgaris* L.

Е. В. Киселева, Н. А. Дударева, А. Э. Бояринцева,  
А. Г. Майстренко, Н. Б. Христолюбова, Р. И. Салганик

**Введение.** Известно, что геном митохондрий высших растений резко отличается от генома митохондрий животных как по размерам, так и по своей организации [1]. Так, размеры митохондриальной ДНК (мтДНК) растений достигают 2500 тысяч пар нуклеотидов (т. п. н.), тогда как мтДНК животных не превышают 18 т. п. н. Показано, что геном митохондрий растений, кроме высокомолекулярных форм ДНК, содержит многочисленные субгеномные кольцевые ДНК, образующиеся, как полагают, за счет рекомбинаций основного генома в районах прямых повторов и, наконец, в ряде случаев плазмидоподобные ДНК [2].

Изучению митохондриального генома растений в последние годы уделяется все большее внимание, поскольку показано, что помимо основной функции — энергетического обеспечения внутриклеточных процессов — митохондрии ответственны за целый ряд таких практически важных свойств растений, как устойчивость к патотоксинам и цитоплазматическая мужская стерильность [3]. Для понимания функционирования митохондриального генома важное значение имеет исследование особенностей структурной и пространственной организации мтДНК.

Изучению этого вопроса, а также биохимическому анализу гетерогенности состава митохондриального генома фертильных растений сахарной свеклы посвящена эта работа.

**Материалы и методы.** В работе исследовали мтДНК, выделенные из растений фертильной линии сахарной свеклы СОАН-102 (коллекция лаборатории полиплоидии Ин-та цитологии и генетики Сиб. отд-ния АН СССР).

Митохондрии выделяли из пятидневных этиолированных проростков методом дифференциального центрифугирования, обрабатывали ДНКазой для освобождения от ядерной ДНК, отмывали от фермента и центрифугировали в ступенчатом 1,2 и 1,6 М сахарозном градиенте для очистки от примеси пластид и других субклеточных компонентов. Для выделения ДНК очищенные митохондрии собирали из фракций 1,35—1,45 М сахарозы и инкубировали в 1 %-ном Na-саркозиле с протеиназой K («Sigma», США, 100 мкг/мл) в течение 30 мин при 37 °С, чтобы разрушить мембраны и гидролизовать белки, и далее при выделении и очистке мтДНК следовали методу, описанному в [4]. Фенольную депротеинизацию мтДНК проводили до исчезновения видимой интерфазы.

Электрофоретический анализ мтДНК осуществляли в 1,5 %-ном агарозном геле, в каждой пробе содержалось по 30 мкг ДНК. Условия электрофореза и окраски бромистым этидием были стандартными.