Коломиец О. О.¹, Верхолевский Ю. В.¹, Павлова И. В.², Глушен С. В.¹

1Белорусский государственный университет,

²РУП «Институт овощеводства НАН Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь

ЦИТОМЕТРИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРОЛИФЕРАЦИИ КЛЕТОКВ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЕ И ТКАНЯХ РАСТЕНИЙ

Измерение относительного содержания ДНК в клетках человека и животных широко используется для оценки уровня их плоидности и распределения клеток по периодам клеточного цикла. Однако для клеток растений этот метод применяется значительно реже из-за необходимости выделения клеточных ядер для получения репрезентативного объема данных. В связи с этим нами разработана методика выделения клеточных ядер из растительных тканей, которая обеспечивает проведение цитометрического анализа с помощью флуоресцентного микроскопа, оборудованного телекамерой с высокой чувствительностью и расширенным динамическим диапазоном.

К настоящему времени методика апробирована на таких объектах как томаты, рожь и культура клеток барвинка малого. При этом наряду с определением уровня плоидности оказалось также возможным оценивать ростовые потенции клеточных популяций, интерпретируя изменения формы получаемой цитограммы в зависимости от условий роста и внешних воздействий.

Как известно, при культивировании in vitro клетки последовательно проходят следующие фазы: начальную, экспоненциального роста, линейного роста, замедления роста, стационарную и отмирания. Нами было обнаружено, что переход культуры клеток барвинка малого из одной фазы в другую сопровождается закономерным из-

менением формы ДНК-цитограммы. Наиболее выражены различия между начальной фазой и фазой отмирания, где клетки сконцентрированы в G1-периоде клеточного цикла, и фазами экспоненциального и линейного роста, характеризующимися повышенной долей клеток в G2-периоде.

Сходные результаты были получены при сравнительном анализе пролиферативного статуса клеток ранних и поздних листьев растений томатов. ДНК-цитограммы ювенильных листьев соответствовали в целом начальной фазе роста клеточной культуры, тогда как цитограммы поздних листьев — экспоненциальной фазе роста. Таким образом, оценка пролиферативного статуса клеток при помощи цитометрии клеточных ядер позволяет дать объективную оценку ростовому потенциалу органов растения.

Kolomiets O. O., Verholevskii J. V., Pavlova I. V., Gloushen S. V.

CYTOMETRY OF CELL PROLIFERATION IN SUSPENSION CULTURE AND TISSUES OF PLANTS

We have developed a novel technique for isolation of cell nuclei from plant tissues and cultured cells followed by measurement of the relative content of DNA in these. Using this technique it is found that juvenile leaves of tomato plants differ from the later ones by potential of growth.