

Рисунок 1. Электрофореграммы ДНК маркеров, полученные методом пульсирующего электрофореза в 0,5 x TBE буфере, при температуре 10-12°C:

(А) Lambda ladders 50-1000 kb (Promega): 1-6 часов с временем пульса 20 сек и напряжением 175 В; 2 - 12 часов с временем пульса 60 сек и напряжением 175 В; 3 - 12 часов с временем пульса 20 сек и напряжением 175 В.

(Б) Pulse marker 225-2200 kb (Sigma): 1 - 6 часов с временем пульса 20 сек напряжением 175 В; 2 - 12 часов с временем пульса 60 сек напряжением 175 В; 3 - 12 часов с временем пульса 60 сек напряжением 175 В.

В результате проведенных исследований были выбраны условия проведения гель-электрофореза, позволяющие с высокой точностью определить молекулярную массу образующихся фрагментов ДНК в зависимости от интенсивности и длительности воздействия стрессора, и тем самым установить уровень повреждения генома растительных клеток.

На основе полученных результатов были проведены исследования особенностей деградации ДНК корней 7-дневных проростков ячменя, под влиянием эпибрасинолида в условиях умеренного солевого стресса.

Анализ электрофореграммы показал, что при воздействии умеренного солевого стресса в диапазоне концентраций хлорида натрия от 100 мМ до 200 мМ на корни 7-дневные проростков ячменя наблюдается деградация ядерной ДНК, которая идентифицируется появлением фрагментов длиной около 50-300, 800 и 1100 кД (рис. 2). Появление данных фрагментов ассоциируется с начальными стадиями ПКС, индуцированной умеренным солевым стрессом [6,7].

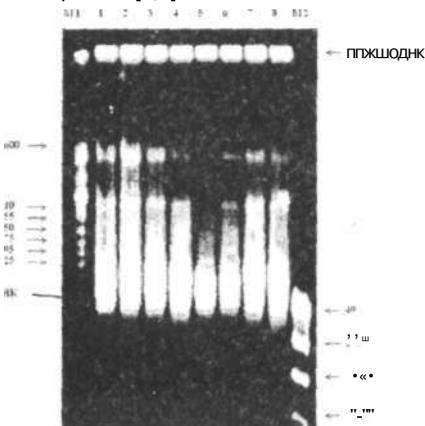


Рисунок 2. Электрофореграмма ядерной ДНК корней ячменя сорта «Сталь» в присутствии эпибрасинолида при умеренном солевым стрессе (12 часов с временем пульса 60 сек и напряжением 175 В, температура 10-12°C):

M1 - маркер Pulse marker 225-2200 Kb (Sigma); 7 - корни проростков, выращенных на воде (контроль 1); 2 - корни проростков, выращенных на растворе хлорида натрия с концентрацией 100 мМ; 3 - корни проростков, выращенных на растворе хлорида натрия с концентрацией 150 мМ; 4 - корни проростков, выращенных на растворе хлорида натрия с концентрацией 200 мМ; 5 - корни проростков, выращенных на воде с добавлением ЭБ 10⁻⁹ М (контроль 2); 6 - корни проростков, выращенных на растворе хлорида натрия, концентрация 100 мМ, с добавлением ЭБ 10⁻⁸ М; 7 - корни проростков, выращенных на растворе хлористого натрия, концентрация 150 мМ, с добавлением ЭБ 10⁻⁹ М; 8 - корни проростков, выращенных на растворе хлорида натрия, концентрация 200 мМ, с добавлением ЭБ 10⁻⁸ М; M2 - маркер λ -ladder III

Необходимо также отметить наличие четкой корреляционной зависимости между увеличением концентрации хлорида натрия и степенью дезинтеграционных процессов генома корневых проростков.

Сравнительный анализ электрофореграммы ядерной ДНК корней 7-дневных проростков, выращенных из семян, которые были предварительно обработаны 10⁻⁹ М раствором ЭБ, с контрольным вариантом (ДНК из корней 7-дневных проростков, выращенных из семян без предварительной обработки ЭБ) выявил значительное уменьшение количества фрагментов ДНК с длиной от 50 до 300 кД (рис. 2). Полученные результаты, возможно, свидетельствуют о включении репаративных механизмов поврежденной ДНК, при опосредованном действии эпибрасинолида [8].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время ПКС рассматривают как механизм реализации адаптивной реакции растений, которая обеспечивает их устойчивость к факторам внешней среды биотической и абиотической природы. Одним из основных маркеров индукции ПКС у растений при стрессорном воздействии является доменная и межнуклеосомная деградация ДНК. Методом гель-электрофореза в инвертирующем электрическом поле показано, что при воздействии умеренного солевого стресса на корни проростков ячменя наблюдается деградация ядерной ДНК, которая идентифицируется появлением фрагментов 50-300, 800 и 1100 Кб. Появление подобных фрагментов свидетельствует о начальной стадии ПКС, индуцированной воздействием солевого стресса. Продемонстрирована обратимость начальных стадий деградации ядерной ДНК в корнях 7-дневных проростков ячменя в присутствии эпибрасинолида при умеренном солевым стрессе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Pennell, R.I., Lamb, C. // Plant Cell. 1997. -V. 9. N7. P. 1157-1168.
2. Greenberg J.J. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. V. 93. N22. P. 12094-12097
3. Obammer F. // EMBO J. 1993. V. 12 N4. P. 3679-3684.
4. Насонова Е.С. // Цитология. 2008. Т. 50. №11. С. 927-935
5. Carte G. F., Frank M., Olson M. V. // Science. 1986. V. 232. N4746. P. 65-68
6. Koukalova B., Kovarik A., Fajkus J et al. // FEBS Lett. 1997. V. 414. N2. P. 289-292.
7. Mittler R., Simon L., Lam El J. Cell Sci. 1997. V. 110. N11. P. 1333-1344.
8. Khripach V., Zhabinskii V., De Groat A. // Ann. Botany. 2000. V. 86. N3. P. 441-447.

УДК535.8:544.77:666.1

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ПРОГРАММИРУЕМОЙ КЛЕТОЧНОЙ СМЕРТИ ПРИ СТАРЕНИИ СЕМЯДОЛЕЙ РАЗВИВАЮЩИХСЯ ПРОРОСТКОВ СОИ (GLYCINE MAX L.)

В.П. Егорова, А.В. Шкрабков, А.С. Горбач

ВВЕДЕНИЕ

Исследования, проведенные в последние годы, свидетельствуют об общности механизмов программируемой клеточной смерти (ПКС) у животных и растений [1]. Общеизвестно, что ПКС у растений служит для выполнения таких жизненно важных функций как реализация программы развития, дифференцировка клеток и тканей при эмбриогенезе и постэмбриональном развитии, защита от патогенов и неблагоприятных воздействий окружающей среды [2].

Картина ПКС у животных и растений имеет много общего. Как и у животных, в клетках растений наблюдается ряд характерных структурно-морфологических изменений:

конденсация хроматина и дробление ядра, сжатие протопласта, складчатость и вакуолизация цитоплазмы [3].

На биохимическом уровне растительные клетки, в которых индуцирована ПКС, в большинстве случаев характеризуются переходом фосфатидилсерина из внутреннего монослоя цитоплазматической мембраны в наружный монослой, выходом цитохрома с из межмембранного пространства митохондрий в цитозоль, активацией сериновых протеаз и терминальных эндонуклеаз, доменной и межнуклеосомной фрагментацией ядерной ДНК [4].

Установлено, что у растений существует два сигнальных пути активации ПКС: внешний - через поверхностные рецепторы, специально предназначенные для запуска ПКС, и внутренний - через митохондрии внутри клетки [3]. Митохондриальный путь активации ПКС индуцируется резким увеличением уровня активных форм кислорода (АФК) в клетке, приводящим к окислительному стрессу. На фоне окислительного стресса происходит пермеабиллизация (mitochondrial permeability transition) внешней мембраны митохондрий, сопровождающаяся выходом цитохрома с в цитозоль, что является ключевым звеном в дальнейших энергозависимых реакциях, приводящих к ПКС [5].

В частности, выход цитохрома с из митохондрий в цитозоль наблюдался при тепловой обработке семян этиолированных проростков огурцов, в протопластах клеток табака при индукции ПКС метадиевом, при инкубации корней растений арабидопсиса или суспензии культуры клеток кукурузы в присутствии D-маннозы [3].

Механизм, с помощью которого осуществляется выход цитохрома с из межмембранного пространства митохондрий в цитозоль, остаётся спорным. Согласно литературным данным избыточная генерация АФК приводит к открытию неспецифической поры во внутренней митохондриальной мембране. Следствием раскрытия поры является набухание матрикса и разрыв внешней мембраны митохондрий, что приводит к выходу цитохрома с из межмембранного пространства в цитозоль [6].

Предполагают, что может существовать и альтернативный механизм, без разрыва мембраны, - раскрытие гигантского белкового канала в самой наружной мембране, способного пропускать цитохром с и другие белки из межмембранного пространства [7]. Возможность существования белкового канала исключает необходимость разрушения митохондрий, что лучше соответствует наблюдаемой *in vivo* ненарушенной морфологии митохондрий при апоптозе [8].

К настоящему моменту накоплено ограниченное количество информации относительно механизма развития ПКС у растений. Ряд авторов полагает, что реально у растений представлены несколько форм ПКС, одна из которых реализуется в онтогенезе как обязательная программа развития и старения (физиологическая клеточная смерть) а другая индуцируется при внедрении патогена или воздействии абиотических стрессоров (апоптоз) [9].

Старение у растений можно рассматривать как конечный этап их вегетативного и репродуктивного развития, который предшествует общей гибели клеток и отмиранию всех органов, а также сопровождается гидролизом полимеров клеток и активным оттоком из стареющего органа мономеров и минеральных солей для использования в других органах [10].

У семян сои (*Glycine max* L) процесс старения сопровождается прорастанием семян и развитие проростков и укладывается в достаточно короткий интервал времени [11]. В связи с тем, что морфологические и биохимические изменения наиболее ярко проявляются также за короткий период времени, в данной работе семена сои были выбраны в качестве модельной системы для исследования возможного проявления специфических (маркерных) признаков ПКС во время старения данного органа.

Семена сои относятся к гипогейному типу. Основная функция гипогейных семян заключается в обеспечении распада содержащихся в них питательных веществ

и переброски образующихся подвижных метаболитов в растущие части проростка. Питательные вещества семян сои, как и у всех бобовых, локализованы в запасующей паренхиме, и представлены главным образом глобулинами двух типов: легуминами и вицилинами. Запасующие белки сосредоточены в особых дискретных образованиях, которые получили название белковых телец. Белковые тельца двудольных растений, к которым относится и соя, формируются посредством заполнения вакуолей незрелых семян и, следовательно, имеют вакуолярную природу. После прорастания семян, когда запас питательных веществ исчерпан, запасующая паренхима погибает [12].

В данной работе проведено исследование особенностей процесса старения семян сои с целью выявления некоторых морфологических и биохимических признаков ПКС, характерных для растительных клеток.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектом исследования служили семена этиолированных 1-9-дневных проростков сои (*Glycine max* L, сорта Wilczek), выращенных в темноте при 25°C на вермикулите [7]. На соответствующих стадиях прорастания семян сои изолировали и замораживали в жидком азоте и хранили до использования при -80°C.

Для светооптических и ультраструктурных исследований материал фиксировали 2,5%-ым раствором глутарового альдегида в 0,1 М фосфатном буфере с pH 7,2, затем дофиксировывали 1%-ым раствором четырехоксида осмия и далее обезвоживали в серии спиртов возрастающей концентрации. Материал заливали в эпоксидную смолу Эпон-812 (Fluka, Германия). После полимеризации из полученных блоков на ультрамикротоме Leica Ultracut E (Leica, Германия) готовили полутонкие срезы толщиной 100 мкм, которые окрашивали 1%-ным толудиновым синим. Препараты исследовали на световом микроскопе Zeiss Axioplan 2 (Карл Цейс, Германия).

Для изучения образцов в просвечивающем режиме электронного микроскопа в работе были использованы серийные ультратонкие срезы толщиной 2 мкм и 0,5 мкм. Полученные препараты исследовали и фотографировали с помощью трансмиссионного электронного микроскопа CM 100 (Philips, Япония) [13].

Выделение геномной ДНК из семян сои проводили ЦТАБ-методом (цетилтриметиламмоний бромид) с некоторыми модификациями [14].

Анализ фрагментации ДНК проводили методом электрофореза в 2%-ом агарозном геле с последующим просмотром и документированием гелей на приборе ImageQuant 300 (GE Healthcare, США) [15].

Межнуклеосомную фрагментацию ДНК ("DNA ladder") выявляли методом блоттинга по Саузерну [15]. Для этого фрагменты ДНК, предварительно разделённые с помощью гель-электрофореза, переносили на нитроцеллюлозную мембрану (Hybond-N, Amersham, Ирландия) и идентифицировали посредством гибридизации с меченой ядерной ДНК сои.

Распределение цитохрома с между митохондриальной и цитозольной фракцией клеток запасующей паренхимы семян сои определяли методом иммуноблоттинга [16]

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Семена сои являются хорошей модельной системой для исследования ПКС, так как все обменные процессы и морфологические изменения, происходящие в период прорастания, характеризуются отсутствием клеточного деления и относительной однородностью клеток в этом органе [11].

Современные представления об ПКС базируются на результатах электронно-микроскопических и биохимических исследований. Морфологические изменения в клетках запасующей паренхимы при старении семян сои исследовались методами световой (рис. 1А) и электронной (рис. 1Б и рис. 2А) микроскопии.

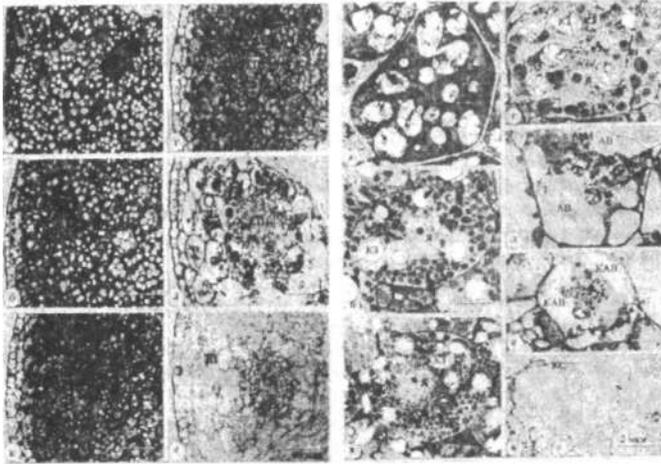


Рисунок 1. А - Полутонкие поперечные срезы семядолей семян и проростков сои, окрашенные толуидиновым синим и Б - Ультраструктурные изменения в клетках запасавшей паренхимы семядолей сои при старении: а - семядоли после 12 часов набухания семян при 4°С (контроль 2), стрелки обозначают белковые тела; б - семядоли после 12 часов набухания семян при 25°С; в - семядоли 1-дневных проростков; з - семядоли 3-дневных проростков; д - семядоли 5-дневных проростков, одинарной стрелкой указан тонопласт, двойными - ограниченные мембранные пространства, заполненные включениями в виде гранул; е - семядоли 7-дневных проростков; ж - семядоли 9-дневных проростков.
Обозначения: КЗ - крахмальные зёрна, Я - ядро, КС - клеточная стенка, Т - тонопласт, АВ - аутофагующая вакуоль, КАВ - коллапс аутофагующей вакуоли, ЗП - запасавшая паренхима, СП - сосудистый пучок, Э - эпидермис.

ММ

В семядолях набухающих семян и 1-дневных проростков большинство клеток было окрашено толуидиновым синим, что свидетельствовало о незначительном расходе запасных белков из семядолей на этой стадии (рис. 1А,а,б). В семядолях 3-дневных проростков присутствовало небольшое количество неокрашенных клеток (рис. 1А,в). Исчезновение окрашивания объясняется отсутствием белка в клетках, обусловленного гидролизом последнего в результате активизации соответствующих протеаз. Дальнейший рост проростков характеризовался увеличением количества неокрашенных клеток и уменьшением числа зёрен крахмала в семядолях (рис. 1А,г,д). На терминальной стадии прорастания, окрашенные клетки и зёрна крахмала практически отсутствовали, что соответствовало полному расходу запасавших веществ (рис. 1А,е).

Уменьшение количества запасавших белков в клетках паренхимы, может являться одним из основных факторов (триггеров), активизирующих процесс старения в семядолях сои при развитии проростков.

С помощью метода электронной микроскопии показано, что расходование запасавших белков в семядолях сои привело к превращению белковых телец в лизирующие вакуоли (рис. 1Б,б,в). В дальнейшем наблюдалось увеличение объема вакуолей и уменьшение объема протопласта (рис. 1Б,з,д), в результате чего за счёт процессов аутофагии и аутолизиса сформировалась большая центральная вакуоль. Коллапс центральной вакуоли, повлёк за собой уменьшение тонопласта и полный лизис протопласта (рис. 1Б,е), что в конечном итоге ознаменовало собой физиологическую смерть клеток запасавшей паренхимы (рис. 1Б,ж).

Известно, что межнуклеосомная фрагментация ядерной ДНК является одним из проявлений ПКС, развивающейся по механизму апоптоза, как в животной, так и в растительной клетке [4]. Поскольку размер ДНК в составе одной нуклеосомы составляет - 200 пар оснований, то в агарозном геле при гель-электрофорезе образуется нуклеосомная лестница, каждая ступень которой соответствует фрагменту ДНК с длиной, кратной двумстам парам оснований.

В данной работе для исследования характера деструкционных процессов, происходящих в ядре при старении, ядерная ДНК была проанализирована с помощью метода блоттинга по Саузерну (рис. 2Б).

Показано, что незначительная межнуклеосомная фрагментация ДНК впервые детектируется в семядолях 1- и 3-дневных проростков сои. В дальнейшем наблюдалась интенсификация фрагментации ДНК в семядолях проростков, находившихся на более поздних стадиях развития.

Также необходимо отметить, что усиление процесса межнуклеосомной фрагментации ДНК было характерно только для тех клеток паренхимы, которые уже потеряли большую часть запасных белков. Поскольку межнуклеосомная фрагментация ДНК является маркерным признаком апоптоза, то полученные результаты свидетельствуют о том, что старение семядолей при развитии проростков сопровождается индукцией ПКС по механизму апоптоза.

Согласно существующим в литературе представлениям, важнейшим признаком ПКС как у животных, так и у растений является выход цитохрома с из межмембранного пространства митохондрий в цитозоль [5]. Именно нарушению барьерной функции митохондриальных мембран отводят ключевую роль в развитии многих типов ПКС [6].

При исследовании клеток запасавшей паренхимы семядолей сои методом электронной микроскопии значительные изменения в ультраструктуре митохондрий были выявлены только у 9-дневных проростков, т.е. на терминальной стадии старения (рис. 2А). Митохондрии семядолей набухших семян (12 часов набухания при 25°С) и 1-дневных проростков имели ортодоксальный вид (овальная форма, средней плотности матрикс, многочисленные слабовыраженные кристы) (рис. 2А,б,в). В клетках семядолей 3-, 5- и 7-дневных проростков отмечено наличие конденсированных митохондрий (овальная форма, электронно-плотный матрикс, ярко выраженные кристы) (рис. 2А,г,д). Переход митохондрий в конденсированное состояние является следствием усиления дыхательной активности митохондрий, сопряжённой с синтезом АТФ [17]. Наиболее значительные ультраструктурные изменения проявились у митохондрий в клетках семядолей 9-дневных проростков. Так, в условиях терминальной стадии старения семядолей митохондрии отличались неправильной формой, набухшим просветленным матриксом, редукцией крист и нарушением целостности наружной мембраны (рис. 2А,ж).

Кроме этого, методом Вестерн-блот анализа было показано, что развитие ПКС при старении семядолей сои сопровождалось выходом цитохрома с из межмембранного пространства митохондрий в цитозоль (рис. 2В и 2Г). Как следует из результатов, приведенных на рисунке 2В, следовые количества цитохрома с в цитозоле впервые детектируются в клетках семядолей 1-дневных проростков сои. В дальнейшем наблюдалось резкое увеличение уровня цитохрома с в цитозоле 3-дневных проростков, который оставался постоянным вплоть до терминальной стадии старения семядолей (рис. 2В). Обнаружено также, что увеличение уровня цитохрома с в цитозольной фракции чётко коррелировало с его уменьшением (вплоть до полного исчезновения у 9-дневных проростков) в митохондриальной фракции клеток семядолей, находящихся на той же стадии старения.

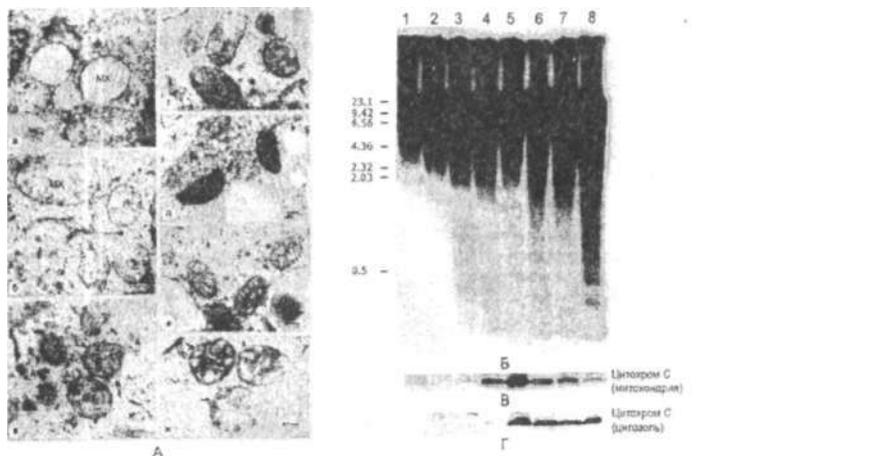


Рисунок 2. А - Изменения ультраструктуры митохондрий в клетках запасающей паренхимы семядолей сои при старении;

а - семядоли после 12 часов набухания семян при 4°C (контроль 2), молодые митохондрии (ярко выраженная двойная мембрана, отсутствие крист); б - семядоли после 12 часов набухания семян при 25°C, ортодоксальные митохондрии (овальная форма, средняя плотность матрикса, слабо выраженные кристы); в - семядоли 1-дневных проростков, ортодоксальные митохондрии; г - семядоли 3-дневных проростков, конденсированные митохондрии (овальная форма, электронно-плотный матрикс, ярко выраженные кристы); д - семядоли 5-дневных проростков, конденсированные митохондрии; е - семядоли 7-дневных проростков, конденсированные митохондрии; ж - семядоли 9-дневных проростков, набухшие митохондрии (неправильная форма, просветлённый матрикс, редукция крист, деструкция мембраны), стрелки указывают возможный район разрыва наружной мембраны митохондрии.

Б - Анализ фрагментации ядерной ДНК семядолей сои методом Саузерна; В - Вестерн-блот анализ цитохрома с в митохондриях и Г - Вестерн-блот анализ цитохрома с в цитозоле клеток запасающей паренхимы семядолей сои, дорожка 1 - семядоли сухих семян (контроль 1), дорожка 2 - семядоли после 12 часов набухания семян при 4°C (контроль 2), дорожка 3 - семядоли после 12 часов набухания семян при 25°C, дорожка 4 - семядоли 1-дневных проростков, дорожка 5 - семядоли 3-дневных проростков, дорожка 6 - семядоли 5-дневных проростков, дорожка 7 - семядоли 7-дневных проростков, дорожка 8 - семядоли 9-дневных проростков. Обозначения: МХ - митохондрия.

Следует отметить, что переход митохондрий в конденсированное состояние в клетках семядолей 3-, 5- и 7-дневных проростков можно объяснить выходом цитохрома с в цитозоль, поскольку, как отмечалось ранее, выход цитохрома с в межмембранное пространство митохондрий и индукция ПКС сопряжены со значительным потреблением АТФ, что приводит к интенсификации энергетических процессов в митохондриях [6].

Сопоставление сроков детекции цитохрома с в цитозоле (3-дневные проростки) и деструктивных процессов в митохондриях (9-дневные проростки) позволяет предположить, что выход цитохрома с из межмембранного пространства обусловлен формированием специфического проводящего канала, а не нарушением целостности наружной мембраны митохондрий в результате набухания матрикса [18].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований было установлено, что старение семядолей сои при развитии и росте проростков сопровождается индукцией программируемой клеточной смерти в клетках запасающей паренхимы. На ультраструктурном уровне показано, что

расходование запасных белков приводит к превращению белковых телец в лизирующие вакуоли, которые за счёт аутофагии и лизиса протопласта формируют большую центральную вакуоль. Коллапс центральной вакуоли приводит к физиологической гибели клеток запасающей паренхимы семядолей сои. При этом целостность наружной мембраны митохондрий сохранялась до поздних стадий старения семядолей.

Установлено, что на биохимическом уровне развитие ПКС в семядолях сои сопровождалось выходом цитохрома с из межмембранного пространства митохондрий в цитозоль и межнуклеосомной деградацией ДНК. Приведенные результаты свидетельствуют о том, что ПКС, индуцированная при старении семядолей сои, протекает по смешанному типу, так как характеризуется проявлением признаков, как физиологической смерти растительной клетки, так и апоптоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бакеева Я. Э., Дзюбинская Э. В., Самуилов В. Д. // *Биохимия*. 2005. Т. 70. № 9. С. 1177-1185
2. Lam E. // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2004. Vol. 5. N4. P. 305-315.
3. Ванюшин Б. Ф. // *Успехи биологической химии*. 2001. Т. 41. С. 3-38.
4. Bukner B., Johal G. S., Jenick-Bukner D. // *Physiol. Plant* 2000. Vol. 108. N3. P. 231-239.
5. Marechal E., Baldan S. // *Tren. Plant Sci.* 2002. Vol. 7. N12. P. 525-526
6. Skulachev V. P., Bakeeva E., Chemyak B. V. et al. // *Mol. Cell Biochem.* 2004. Vol. 256-257. N1-2. P. 341-58.
7. Shimizu S., Matsuoka Y., Shinohara Y. et al. // *J. Cell Biol.* 2001. Vol. 152. N2. P. 237-250
8. Wyllie A. H., Kerr J. F., Currie A. R. // *Int. Rev. Cytol.* 1980. Vol. 68. P. 251-306
9. Александрович Н. И., Ванюшин Б. Ф. // *Физиол. раст.* 2009. Т. 56. №3. С. 321-332
10. Dang J. L., Dietrich R. A., Haward T. // *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. NY. 2000. 1345 p.
11. Wen J. Q., Liang H. G. // *Physiol. Plant*. 1993. Vol. 89. N2. P. 805-810.
12. Van der Widen W., Herman E. M., Chrispeels M. J. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1980. Vol. 77. N1. P. 428-432
13. Reynolds E. S. // *J. Cell. Biol.* 1963. Vol. 17. N2. P. 208-221.
14. Wang M., Oppedijk B. J., Caspers M. P. M. et al. // *J. Exp. Bot.* 1998. Vol. 49. N4. P. 1293-1301.
15. Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T. // *Molecular cloning. Laboratory manual*. N.Y.: Cold Spring Harb. Lab. Press, 1998
16. Balk J., Leaver C, McCabe P. // *FEBS Lett* 1999. Vol. 463. N1-2. P. 151-154.
17. Машанский В. Ф., Рабинович И. М. // *Ранние реакции клеточных органоидов*. Л.; Наука, 1987. 118 с
18. Balk J., Leaver C. J. // *Plant Cell*. 2001. Vol. 13. N8. P. 1803-1818.

УДК 546.1

КОНЦЕПЦИЯ ЭЛЕКТРООТРИЦАТЕЛЬНОСТИ

Елисеев С.Ю.

Молекула - наименьшая частица вещества, определяющая его свойства и способная к самостоятельному существованию. Состоит из атомов одного или различных видов химических элементов и существует как единая динамическая система атомных ядер и электронов. Атомы объединяются в молекулы с помощью химических связей, в образовании которых принимают участие в основном внешние (валентные) электроны.

Реакционная способность соединений обусловлена типом химических связей, природой связываемых атомов и их взаимным влиянием в молекуле. Свойства химической связи выражаются через ее количественные характеристики - длину, энергию, полярность, поляризуемость.

Полярность связи обусловлена неравномерным распределением электронной плотности между атомами, образующими связь. Склонность атомов притягивать электроны связи характеризуется эмпирическим критерием - электроотрицательностью. Понятие электроотрицательности в научный оборот ввел выдающийся американский химик Лайнус Полинг в 1932 году. Он использовал это понятие как количественную характеристику способности атома в молекуле притягивать к себе электроны.