

УДК 5.57.576.4

¹А. О. ПОТРОХОВ, ²Д. О. КЛИМЧУК, ²С. М. ЩЕРБАКОВ, ³О. П. ТРОХИМЕНКО

¹Інститут клітинної біології та генетичної інженерії Національної академії наук України
вул. Академіка Заболотного, 148, Київ, 03680

²Інститут ботаніки імені М. Г. Холодного Національної академії наук України
вул. Терещенківська, 2, Київ, 01601

³Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика
вул. Дорогожицька, 9, Київ, 04112

УЛЬТРАСТРУКТУРНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОВІДНИХ ПУЧКІВ ЛИСТКІВ ТРАНСГЕННИХ РОСЛИН ЦИКОРІЮ З ГЕНОМ ІНТЕРФЕРОНУ АЛЬФА 2Ь ЛЮДИНИ, ІНФІКОВАНИХ ВІРУСОМ ТЮТЮНОВОЇ МОЗАЇКИ

Здійснено оцінку активності екстрактів з трансгенних рослин цикорію з геном інтерферону α -2b людини. При тестування екстрактів, отриманих з трансгенних рослин, на культурі клітин перещеплювальних текстикул поросят (ПТП), яка була інфікована вірусом везикулярного стоматиту (ВВС), виявили інтерферон подібну активність від 942 до 1884 МО/г маси. Разом з тим, рослини не набули стійкості до інфекцій. Інфікування трансгенних рослин фітовірусом призводило до розвитку захворювань. Електронно-мікроскопічними методами була досліджена ультраструктура клітин трансгенних рослин. В результаті не виявлено суттєвих відмінностей між ультраструктурою клітин трансформованих рослин та дикого типу як до, так і після інфікування ВТМ.

Ключові слова: інтерферон, трансгенні рослини, фітовіруси

Відомо, що вірусні хвороби рослин приводять до значного зниження урожайності сільськогосподарських культур у світі. Одним з ефективних шляхів подолання цієї проблеми є використання методів генетичної інженерії для створення стійких рослин. Стійкість таких рослин, може бути обумовлена низкою генів вірусної природи, які кодують, наприклад, капсидний (СР) або транспортний білок вірусів. Так, були створені рослини тютюну, в яких експресувався СР вірус тютюнової мозаїки (ВТМ) [1-3]. Також були створені рослини конюшини з стійкі до альфамозаїку вірусу [4].

Однак, незважаючи на успіхи у створенні стійких рослин, на сьогоднішній день залишається актуальним питання вивчення впливу вірусної інфекції на ультраструктуру клітин трансформованих рослин. Так, при дослідженні впливу ВТМ на мезофільні клітини тютюну було показано, що віріони локалізувались в цитоплазмі та в вакуолі, у той же час в пластидах і ядрі вони не були виявлені. Відомо, що у інфікованих рослин збільшується клітинна стінка та кількість крохмальних зерен і мітохондрій [5]. Показано, що ВТМ впливає на плазмодесми, розширюючи їх для поліпшення транспортування вірусної РНК по рослинному організму [6, 7]. Однак, поряд з вірусним ураженням, отримані біотехнологічні рослини піддаються подвійній стресовій дії, обумовленій як контактом з агробактеріями, так і з вірусом. Крім того, досі не припиняються дискусії, щодо можливих негативних впливів генетичної трансформації безпосередньо на рослини, в тому числі, на ультраструктуру їхніх клітин. Питання, що стосується ультраструктури клітин трансгенних рослин та структури клітин інфікованих рослин, ще не вивчені.

Ця робота була спрямована на вивчення ультраструктури клітин інтактних рослин цикорію з геном *ifn- α 2b* людини, а також трансгенних рослин, які були інфіковані вірусом тютюнової мозаїки.

Матеріал і методи досліджень

Для генетичної трансформації рослин цикорію *Cichorium itybus* L. використовували бактерії *Agrobacterium tumefaciens*, штам GV3101, що несуть вектор РСВ 124 з цільовим геном *ifn- α 2b*

людини під 35S промотором і селективним геном *nptII*. Експланти кокультивували з бактеріальною суспензією 30 хв., після цього їх переносили на агаризоване середовище МС [8] з додаванням 2,5 мг/дм³ 6-бензиламінопурину (БАП), 0,05 мг/дм³ 1-нафтилоцтовлої кислоти (НОК), 500 мг/дм³ цефотаксиму і 25 мг/дм³ канаміцину для регенерації рослин. Отримані на селективному середовищі зелені рослини субкультивували на агаризованому середовищі 1/2 МС з додаванням 25 мг/дм³ канаміцину та 500 мг/дм³ цефотаксиму.

Для отримання екстрактів листки рослин висушували та зважували. Сухий матеріал розтирали на льоду у фосфатному буфері (рН 7,4) та центрифугували 15 хв., 15 тис. г при +4 °С. Супернатант відбирали, додавали фосфатний буфер з 1% додецил сульфату натрію та 1 мМ PMSF, центрифугували при +4 °С 15хв. 15 тис. г, супернатанти змішували.

Визначення противірусної активності досліджуваних екстрактів рослин проводили за пригніченням цитопатичної дії тест-вірусу у субстратзалежній культурі перещеплювальних клітин тестикул поросят (ПТП), одержаній із вірусологічної лабораторії ДУ "Інститут отоларингології ім. Коломійченка АМН України". Як тест-вірус використовували вірус везикулярного стоматиту (ВВС), штамп Indiana з інфекційним титром 4,0 ІgТЦД 50/0,1 мл з музею кафедри вірусології НМАПО ім. П.Л. Шупика МОЗ України. Як референтний препарат використовували рекомбінантний інтерферон людини альфа-2b з противірусною активністю 100 000 МО/мл виробництва НПО "Біофарма" Україна. Дослідження проводили мікрометодом у 96-лункових культуральних планшетах Sarstedt (Німеччина).

Активність інтерферону у досліджуваних зразках розраховували за формулою:

$$N \text{ (МО/мл)} = A_{\text{досл.}}/A_{\text{реф.}} \times P, \text{ де}$$

$A_{\text{досл.}}$ – розрахована активність інтерферону досліджуваного зразка;

$A_{\text{реф.}}$ – розрахована активність інтерферону референтного зразка;

P – активність інтерферону референтного зразка в початковій концентрації в МО/мл.

Для інфікування рослин використовували дикий штамп ВТМ, отриманий на кафедрі вірусології ННЦ "Інститут біології" КНУ ім. Т. Шевченка. Інфікування проводили в умовах теплиць шляхом механічної інокуляції вірусу в поверхню листя цикорію.

Ультраструктуру клітин провідних пучків вивчали методом електронної мікроскопії. Для цього центральну жилку рослини розрізали та фіксували 3%-ним розчином глутаральдегіду ("Merck", Німеччина) в 0,1 М какодилатному буфері (рН 7,2) упродовж 3 год. з дофіксацією 1%-ним розчином тетраоксиду осмію в тому ж буфері впродовж 1 год. за кімнатної температури та 12 год. – за +4°C. Зразки зневоднювали в етанолі та заливали у суміш епоксидних смол (Epon 812-Araldite) [9]. Поперечні сріблясто-золотисті зрізи отримували на ультрамікромомі LKB 8800, зрізи фарбували цитратом свинцю [10] й досліджували в трансмісійному електронному мікроскопі JEM-1230 (JEOL, Токіо, Японія) при напрузі 100 кВ.

Морфометричний аналіз проводили за допомогою програми UTHSCSA Image Tool 3.0. Відхилення вираховували з допомогою програми Excel пакету Microsoft Office 2010; відсоток достовірності склав 95% ($p \leq 0,05$).

Результати досліджень та їх обговорення

Методом агробактеріальної трансформації були отримані трансформовані рослини цикорію. Методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) була доведена присутність генів *ifn- α 2b* і *nptII*. Далі визначали, чи мають екстракти отриманих рослин противірусну інтерферонподібну активність. Аналіз активності проводили з використанням субстратзалежної культури клітин ПТП, інфікованих ВВС. Було виявлено, що отримані екстракти дійсно мали інтерферон подібну активність у межах від 942 до 1884 МО/г. Як видно з табл. 1, екстракти контрольних нетрансформованих рослин активності не мали.

Отже, методом агробактеріальної трансформації були отримані трансгенні рослини з геном *ifn- α 2b* людини, екстракти яких мали інтерферонподібну противірусну активність. Оскільки візуальних проявів ураження на листових пластинках не спостерігали, то через 3 тижні після ураження був проведений ПЛР аналіз, який підтвердив присутність вірусної РНК в інфікованих рослинах. Таким чином, незважаючи на те, що екстракти трансгенних рослин виявляли антивірусну активність, ці рослини були чутливі до ВТМ.

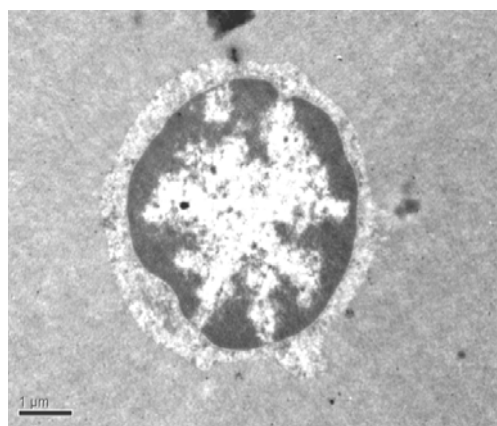
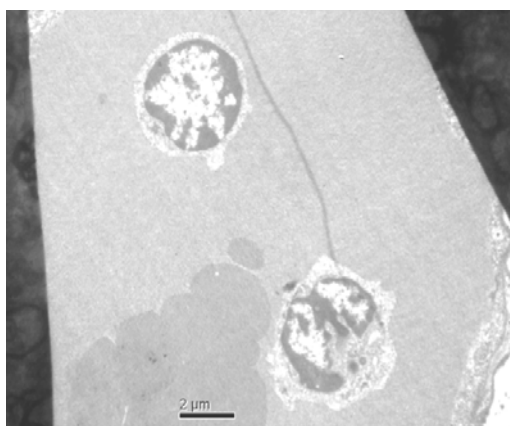
Противірусна активність екстрактів рослин цикорію з геном *inf a2b* людини при тестуванні на клітинах ПТП, інфікованих ВВС

Рослина (№ лінії)	Вектор	МО/г маси
<i>Cichorium itybus</i> , №1	pCB 124	1884
<i>Cichorium itybus</i> , №2	pCB 124	942
<i>Cichorium itybus</i> , контроль		0

Раніше електронно-мікроскопічними методами нами було досліджено ультраструктуру мезофільних клітин трансформованих рослин тютюну з геном інтерферону людини [11]. Однак, оскільки на листкових пластинках цикорію ВТМ не має характерних візуальних проявів, було вирішено дослідити ультраструктуру провідних пучків, в яких відбувається перенесення віріонів. Для проведення електронно-мікроскопічних досліджень було використано поперечні зрізи провідних пучків трансгенних рослин *C. itybus*, інфікованих ВТМ. При дослідженні діаметральних зрізів виявлялося 2-3 хлоропласти, які були розташовані переважно по периферії біля цитоплазматичної мембрани. Строма хлоропластів мала розвинуту внутрішню мембранну систему. Пластиди трансгенних рослин не відрізнялися за своєю будовою від будови пластид у контрольних рослинах (рис. 1).

Після інфікування ВТМ в провідних тканинах накопичувалася незначна кількість вірусних часток, які виявлялися у вигляді поодиноких віріонів, агрегати віріонів майже не зустрічалися. Виявлені віріони були розміром приблизно 300 ± 50 нм (рис. 2). Віріони були помічені як в контрольних нерансформованих, так і в трансформованих рослинах, та не призводили до патологічних зміни у клітинах рослин. Мала кількість вірусних часток, вірогідно, обумовлена тим, що на відміну від рослин тютюну, для яких ВТМ є типовим збудником інфекцій, рослини цикорію не є типовим жителем для нього. Це підтверджується відсутністю характерних проявів вірусу у рослинах цикорію, які спостерігаються в рослинах тютюну. Отже, процеси, які пов'язані з реплікацією і транспортом вірусу в рослинах цикорію, ймовірно, ускладнені та відрізняються від тих процесів, які відбуваються в рослинах тютюну.

При дослідженні провідної тканини у деяких ділянках виявляли скупчення мультивезикулярних тіл, які, вірогідно, відшнуровувалися від основної цитоплазми внаслідок автолітичних процесів. Також на діаметальному зрізі клітини виявляли мітохондрії, які характеризувалися тенденцією до підвищення кількості крист у трансгенних рослин порівняно до контролю. Також, відмічено вільні рибосоми, полірибосоми; диктіосоми з незначною кількістю везикул Гольджі. Клітинні стінки суміжних клітин були пронизані плазмодесмами, середня товщина яких становила від 220–240 до 300–320 нм без помітних змін у структурній організації плазмодесм у клітинах (рис. 1).



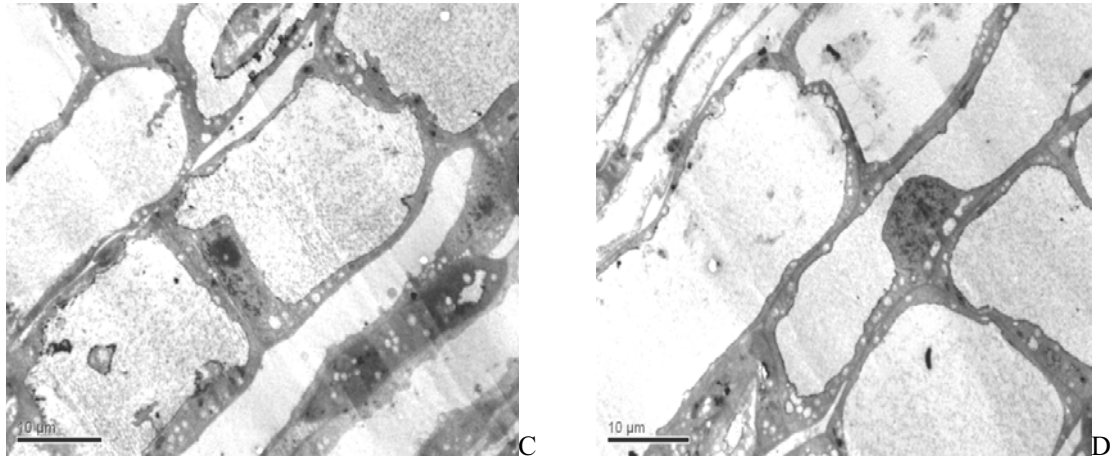


Рис. 1. Ультраструктура клітин провідних пучків рослин цикорію з геном *inf a2b* людини.

Примітки: А, В – поздовжній переріз провідних клітин нетрансформованих рослин цикорію; С, D – поперечний переріз провідних клітин нетрансформованих та трансформованих рослин цикорію.

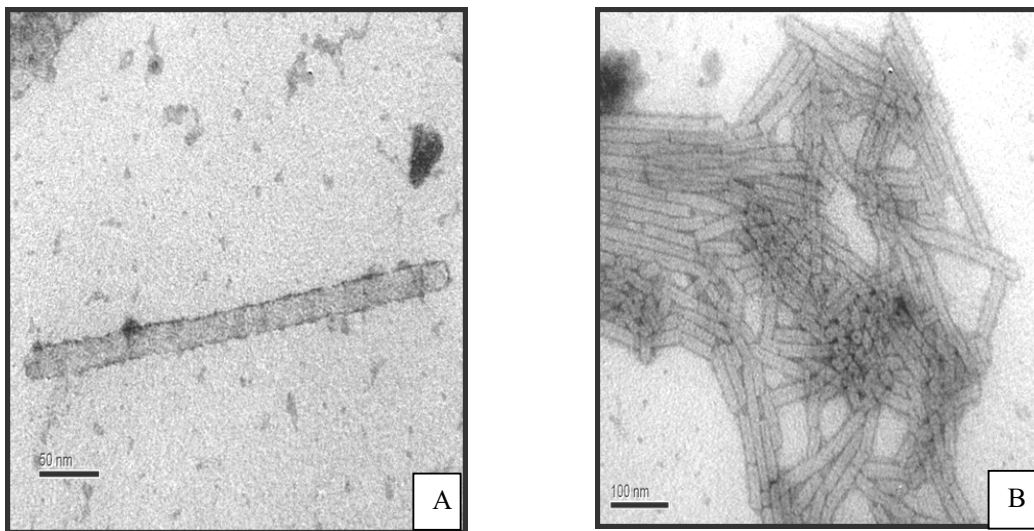


Рис. 2. Віріони ВТМ у провідних клітинах рослин цикорію.

Примітка: А – поодинокі віріони ВТМ; В – скупчення вібріонів ВТМ.

Аналізуючи отримані результати, можна дійти до висновку, що генетична трансформація рослин цикорію не призводила до помітних змін в ультраструктурі провідних клітин рослин. Не було виявлено патологічних процесів, які спричинені перенесенням чужорідного гену, трансгенні рослини не відрізнялися від дикого типу як за загальною морфологією рослини, так і за ультраструктурою своїх клітин. При дослідженні клітин рослин, які інфіковані ВТМ, не було встановлено принципової різниці між трансгенними та контрольними рослинами. Реакція цих рослин на фітовірусну інфекцію була схожою. Збільшення кількості мультівезикулярних тіл у клітинах контрольних інфікованих рослин у порівнянні з клітинами інфікованих трансгенних рослин, вірогідно, є лише наслідком підвищених автолітичних процесів. Однак, поряд з цим екстракти отриманих нами трансгенних рослин показали інтерферон подібну

протівовірусну активність на клітинах ПТП, які інфіковані ВВС, що може свідчити про активність перенесеного гену інтерферону. Відсутність змін в ультраструктурі клітин трансгенних інфікованих ВТМ рослин порівняно з ультраструктурою контрольних інфікованих рослин може вказувати на те, що інтерферон, який синтезувався в організмі рослин, не впливав на репродукцію фітовірусу [12, 13].

Висновки

Генетична трансформація не призводила до змін ультраструктури клітин рослин, що було показано електронно-мікроскопічним аналізом клітин трансгенних і контрольних рослин цикорію.

Хоча перенесений ген *ifn- α2b* був активним, а екстракти з трансгенних рослин мали інтерферон подібну протівовірусну активність (у межах 942 до 1884 МО/г маси) при впливі на культуру клітин ПТП, інфіковану ВВС, як контрольні, так і трансгенні рослини з геном *ifn- α2b* людини, були чутливі до ВТМ.

Методами електронної мікроскопії показано, що ультраструктура клітин трансгенних рослин, інфікованих ВТМ, не мала значних відмінностей від ультраструктури клітин контрольних інфікованих рослин. В інфікованих клітинах накопичення віріонів, їх локалізація, не відрізнялися.

1. Nelson R. Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene / R. Nelson, D.E. Barun // Science. — 1986. — Vol. 232. — P.738—743.
2. Savenkov E. Coat protein gene-mediated resistance to Potato virus A in transgenic plants is suppressed following infection with another potyvirus. / E. Savenkov, J. Valkonen // J Gen Virol. — 2001.— Vol. 82. — P.2275—2278.
3. Prins M. Strategies for antiviral resistance in transgenic plants. / [M. Prins, M. Laimer, M. Tepfer et al.] // Molecular plant pathology. —2008.— Vol. 9. — P.73—83.
4. Panter S. Molecular breeding of transgenic white clover (*Trifolium repens* L.) with field resistance to Alfalfa mosaic virus through the expression of its coat protein gene. / [S. Panter, P.G. Chu, E. Ludlow, R. Garrett et al] // Transgenic Res. — 2012.— Vol. 21. — P. 619—632.
5. Wei Sheng Ultrastructural differences of RMV and TMV infected *Nicotiana tabacum* mesophyll cells for distinguishing virus strains. / Wei Sheng, Wu Xue Bao // Weishengwu Xuebao. — 1998.—Vol. 38 — P. 422-7.
6. Reicler C. Tobacco mosaic virus infection induces severe morphological changes of the endoplasmic reticulum. / C. Reicler, N. Roger // Cell Biology Proc. Natl Acad. Sci. — 1998. —Vol 95.— P.11169—11174.
7. Reunov A. Effect of tobacco mosaic virus strains on the ultrastructure of tobacco leaf parenchymal cells. / A. Reunov, V.Gnutova, I. Lapshina // Izv Akad Nauk Ser Biol. — 2006.— Vol. 33. — P. 409—415.
8. Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. / T. Murashige, F. Skoog // Physiol Plant. — 1962.—Vol. 15. — P. 473—497.
9. Klymchuk D. Cytochemical localization of calcium in soybean root cap cells in microgravity. / D. Klymchuk, C. Brown, D. Chapman, T. Vorobyova, G. Martyn // Adv. Space Res. — 2001.— Vol. 27. — P. —967—72.
10. Reynold S. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. / S. Reynold // J. Cell Biol. — 1963.— Vol. 17. —P.208—212.
11. Potrokhov A. Ultrastructure characteristics of mesophyllous cells of transgenic tobacco plants with human interferon alpha 2b gene infected by tobacco mosaic virus. / [A. Potrokhov, D. Klymchuk, Yu. Akimov et al.] // Genetics and Plant Physiology — 2014. — Vol. 4. P. 174—181.
12. Robert H. Viral Encounters with 2',5'-Oligoadenylate Synthetase and RNase L during the Interferon. / H. Robert //Antiviral Response J. Virol. — 2007.— Vol. 81. — P.12720 et al 12729.
13. Pyung Ok Lim Multiple virus resistance in transgenic plants conferred by the human dsRNA-dependent protein kinase. / Pyung Ok Lim, Ung Lee // Molecular Breedin. — 2002. — Vol. 10. —P. 11—18.

A. A. Potrokhov, D. A. Klimchuk, S. N. Sherbakov, E. P. Trohimenko

Институт клеточной биологии и генетической инженерии Национальной академии наук Украины

Институт ботаники им. М.Г. Холодного Национальной академии наук Украины

Национальна медицинская академия последиplomного образования им. П. Л. Шупика

УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОВОДЯЩИХ ПУЧКОВ ЛИСТЬЕВ
ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ЦИКОРИЯ С ГЕНОМ ИНТЕРФЕРОНА АЛЬФА 2В
ЧЕЛОВЕКА, ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСОМ ТАБАЧНОЙ МОЗАЙКИ

Осуществлена оценка активности экстрактов из трансгенных растений цикория с геном интерферона α -2b человека. При тестировании экстрактов, полученных из трансгенных растений, в культуре клеток перевивных текстикул поросят (ПТП), которая была инфицирована вирусом везикулярного стоматита (ВВС), обнаружили интерфероподобную активность от 942 до 1884 МЕ / г массы. Вместе с тем, растения не приобрели устойчивость к фитовирусной инфекции ВТМ. Инфицирования трансгенных растений фитовирусом приводило к развитию заболевания. Электронно-микроскопическими методами была исследована ультраструктура клеток трансгенных растений. Не было обнаружено существенных ультраструктурных различий между клетками трансформированных растений и дикого типа как до так и после инфицирования.

Ключевые слова: интерферон, трансгенные растения, фитовирус

A. A. Potrokhov, D. A. Klimchuk, S. N. Sherbakov, E. P. Trohimenko

Institute of Cell Biology and Genetic Engineering of the National Academy of Sciences of Ukraine

Institute of Botany of the National Academy of Sciences of Ukraine

National medical academy of post-graduate education P.L.Shupik Heals ministry of Ukraine

ULTRASTRUCTURAL CHARACTERISTIC OF CONDUCTING BEAMS IN TRANSGENE
CHICORY PLANTS WITH THE HUMAN INTERFERON ALPHA 2B GENE, INFECTED BY
TOBACCO MOSIC VIRUS

Viral diseases lead to a significant decline in crop yields in the world. Using genetic engineering methods it is possible to create resistant plants to viral infections. But, despite success of these methods, influence of viral infection on the cells ultrastructure in transformed plants remains unclear. For example, in normal, viruses are localized in mesophilic cells in the cytoplasm and in vacuole. To improve viral RNA transport into the plant organism, TMV change plasmodes, expanding them. However, the biotechnological plants undergo a double stress action, caused by contact with vectors in the process of transformation and with the virus infection. Possible negative effects of genetic transformation on plants and, in particular, on the cells ultrastructures are still unknown. Also the question of the cells ultrastructure in transgenic plants after viral infected has not yet been studied. The aim of this work was to investigate the cells ultrastructure of intact chicory plants with the human *ifn- α 2b* gene, infected by TMV.

The transformed plants of chicory were obtained by agrobacterial transformation. The PCR method confirmed the presence of the *ifn- α 2b* and *nptII* genes. Interferon antiviral activities were obtained from the extracts from transgenic plants. Activity analysis was performed using a substrate-dependent culture of PTP cells infected by VSV. It was found that the extracts actually had interferon-like activity in the range from 942 to 1884 IU / g. Despite this activity transgenic plants were susceptible to tobacco mosaic virus. The conducted electron microscopic analysis of transgenic and control chicory plants did not show any significant differences in cells ultrastructure. Genetic transformation did not lead to changes in the ultrastructure in plant cells. The cells ultrastructure in transgenic plants, infected by TMV, did not significantly differ from the cells ultrastructure in control infected plants. In infected cells, the accumulation of virions, their localization and morphological changes in plants were the same. As a result, it has been shown that transgenic plants in their morphology and cell structure were similar with wild-type plants. Viral infection in such plants proceeds in the same way as in wild-type plants and does not lead to a significant difference. We ascertain the fact that cell ultrastructure between transgenic type and wild type plants was the same.

This fact gives us reason to argue that genetic engineering does not lead to negative consequences on the cell ultrastructure. Also that the development of pathological reactions caused by virus in transgenic plants and wild-type plants was similar. Consequently, based on these parameters transgenic plants are not altered from wild-type plants and can be used in agriculture.

Key words: interferon, transgenic plants, phytovirus

Рекомендує до друку

Надійшла 23.02.2018

Н. М. Дробик

УДК 57.086.83:661.874:504.5

О. В. ШТАПЕНКО, Ю. І. СЛИВЧУК, І. І. ГЕВКАН

Інститут біології тварин НААН, Львів
вул. В. Стуса, 38, Львів, 79034

ВПЛИВ ХЛОРИДУ НІКЕЛЮ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ТА МЕТАБОЛІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛІТИН *IN VITRO*

Досліджено залежність росту та метаболічних змін у клітинах яйцепроводів корів за різної концентрації хлориду нікелю. Показано, що обидві концентрації хлориду нікелю 100 та 150 мкг/мл спричиняють зниження проліферативного росту клітин яйцепроводів впродовж 72 годин культивування, однак більш виражений вплив виявлено за вищої дози сполуки.

Зниження інтенсивності проліферації клітин, зумовлене хлоридом нікелю, супроводжувалася змінами метаболічних процесів у культурі клітин. Виявлено, що вища концентрація вірогідно знижує виживання клітин, їх здатність до поділу ($P < 0.001$), знижує інтенсивність споживання фосфору ($P < 0.001$) та вірогідно підвищує вміст кальцію ($P < 0.01$).

Ключові слова: культура клітин in vitro, нікель хлорид, проліферація, цитотоксичність

Значне забруднення довкілля важкими металами як продуктів техногенної діяльності, викликає у тварин зниження функціональної активності репродуктивної системи і, зокрема, її активних клітинних елементів, таких як ростучі фолікули, епітелій яйцепроводів та маткових залоз, які відіграють провідну роль в оогенезі, ембріогенезі та живленні ембріонів [2, 3].

Дослідження впливу сполук важких металів в умовах *in vitro* дозволяє реєструвати навіть незначні зміни на клітинному рівні, які проявляються у вигляді різних патологічних порушень на рівні організму, оскільки вивчення органоспецифічної дії сполук в умовах *in vivo* ускладнене структурною та функціональною гетерогенністю клітин організму. Найбільш важливим в цьому аспекті є визначення цитостатичного та цитотоксичного (генотоксичності) ефекту, оскільки відомо, що ушкодження ДНК можуть ініціювати злоякісне переродження клітин, а в разі змін ДНК у статевих клітинах виникає небезпека для здоров'я нащадків [2].

Нікель належить до групи ультрамікроелементів. Він є кофактором низки ферментів, зокрема, 5-нуклеозидфосфатази, аргінази, уреаз, ацетил-КоА-декарбоксилази, Ni/Fe-гідрогенази, ензимів шлунко-кишкового тракту [5, 8, 14]. У період ембріонального розвитку нікель концентрується у тканинах та органах, які пов'язані з кровотворною функцією, задіяні в біосинтезі гормонів, вітамінів, біологічно активних речовин. Так, у період ембріогенезу нікель виявляється в печінці і селезінці плода людини на 20-25 тижні [4]. Абсорбція нікелю при вагітності та лактації збільшується.

Біологічна роль нікелю пов'язана з його участю в структурній організації та функціонуванні основних клітинних компонентів – ДНК, РНК та білку. Відомо, що іони Ni^{2+}