

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений

НЫЧ
Анна Владимировна

**АНАЛИЗ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНОВ НИКЕЛЯ И НИКЕЛЬ-
ГИСТИДИНОВЫХ КОМПЛЕКСОВ НА АКТИВНОСТЬ
МАРКЕРА АВТОФАГИИ ATG8A В КЛЕТКАХ КОРНЯ
ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ**

Аннотация
к дипломной работе

Научный руководитель:
старший преподаватель
В.С. Мацкевич

Допущена к защите

«___» _____ 2022 г.

Зав. кафедрой клеточной биологии и биоинженерии растений

кандидат биологических наук, доцент

_____ И.И. Смолич

Минск, 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

Перечень условных обозначений	3
Введение	7
Глава 1 Обзор литературы	9
1.1 Автофагия в растениях: общее представление и функции	9
1.2 Автофагия при стрессе	11
1.2.1 Индукция автофагии в ответ на абиотические и биотические стресс-факторы	11
1.2.2 Влияние Ni и комплексов Ni – Гис на растения	12
1.3 Молекулярный механизм автофагии	13
1.3.1 Регуляция индукции	15
1.3.2 Роль ATG-белков	16
1.3.3 Белок ATG8	17
1.4 Взаимосвязь автофагии и программированной клеточной смерти	18
1.5 Использование метода флуоресцентной микроскопии при исследовании процесса автофагии	19
1.5.1 Особенности метода	19
1.5.2 Белок mCherry	20
Глава 2 Материалы и методы	22
2.1 Объект исследования: <i>Arabidopsis thaliana</i>	22
2.2 Культивирование арабидопсиса в стерильных условиях	23
2.2.1 Стерилизация семян	23
2.2.2 Выращивание растений	23
2.3 Индукция автофагии	24
2.3.1 Симуляция тяжелометаллического стресса в гелевых системах	24
2.3.2 Обработка растений никель-содержащими растворами	24
2.4 Тест на жизнеспособность	24
2.5 Ростовые тесты	25
2.6 Статистическая обработка данных	26
Глава 3 Результаты и обсуждения	27
3.1 Изменение роста и архитектуры корня <i>Arabidopsis thaliana</i> при выращивании на среде с Ni²⁺	27
3.2 Развитие автофагических реакций в ответ на Ni-стресс	30
Заключение	39
Список использованных источников	40

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 43 стр., 13 рис., 50 источн.

НИКЕЛЬ, НИКЕЛЬ-ГИСТИДИНОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ, АВТОФАГИЯ, ATG8A, КОРЕНЬ, АРАБИДОПСИС.

Объект исследования: *Arabidopsis thaliana* L. Heynh.

Цель работы: протестировать влияние ионов никеля и никель-гистидиновых комплексов на активность маркера автофагии ATG8a в клетках корня высших растений.

Методы исследования: культивирование *Arabidopsis thaliana* в стерильных условиях, анализ ростовых параметров, определение жизнеспособности клеток корня арабидопсиса с помощью флуоресцентной микроскопии, изучение влияния ионов никеля и никель-гистидиновых комплексов на активность маркера автофагии ATG8a.

В результате нами было показано, что автофагия требуется для нормального развития растений в ходе онтогенеза, а также играет важную роль в адаптации к различным биотическим и абиотическим стрессовым воздействиям. Добавление Ni^{2+} в среду выращивания в концентрациях свыше 0,3 мМ ингибирует прирост длины основного корня, однако не влияет на изменение диаметра корня в зоне всасывания и в зоне деления; введение Гис совместно с никелем в соотношении 2 Гис : 1 Ni оказывает протекторное действие на рост корней арабидопсиса; обработка 0,3–3 мМ Ni индуцирует развитие автофагических реакций в клетках корней арабидопсиса в течение 15 ч, после чего уровень автофагии снижается (вероятно, это обусловлено тем, что на данном этапе никелевого стресса происходит переключение с автофагии на более поздние типы клеточной гибели, в частности апоптозоподобной ПКС); введение Гис на фоне никеля стимулирует раннюю редокс-опосредованную активацию автофагии (в течение 3 ч), видимо, имеющую важную роль в распознавании повышенных уровней Ni^{2+} в среде и запуске процессов адаптации. При увеличении времени экспозиции Гис также оказывает протекторное действие, снижая никель-индуцированную клеточную гибель.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 43 стар., 13 мал., 50 крын.

НИКЕЛЬ, НИКЕЛЬ-ГІСТЫДЗІНАВЫЯ КОМПЛЕКСЫ, АЎТАФАГІЯ, АТG8A, КОРАНЬ, АРАБІДОПСІС.

Аб'ект даследавання: *Arabidopsis thaliana* L. Heynh.

Мэта работы: пратэсціраваць уплыў іонаў нікеля і нікель-гістыдзінавых комплексаў на актыўнасць маркера аўтафагіі АТG8a ў клетках кораня вышэйшых раслін.

Метады даследавання: культываванне *Arabidopsis thaliana* ў стэрыльных умовах, аналіз роставых параметраў, вызначэнне жыццяздольнасці клетак кораня арабідопсіса з дапамогай флюарэсцэнтнай мікраскапіі, вывучэнне ўплыву іонаў нікеля і нікель-гістыдзінавых комплексаў на актыўнасць маркера аўтафагіі АТG8a.

У выніку намі было паказана, што аўтафагія патрэбна для нармальнага развіцця раслін у ходзе антагенезу, а таксама іграе важную ролю ў адаптацыі да розных біятычных і абіятычных стрэсавых уздзеянняў. Даданне Ni^{2+} у сераду вырошчвання ў канцэнтрацыях звыш 0,3 мМ інгібіруе прырост даўжыні асноўнага кораня, аднак не ўплывае на змяненне дыяметра кораня ў зоне ўсмоктвання і ў зоне дзялення; увядзенне Гіс сумесна з нікелем у суадносінах 2 Гіс : 1 Ні аказвае пратэктарнае дзеянне на рост каранёў арабідопсіса; апрацоўка 0,3–3 мМ Ні індукуе развіццё аўтафагічных рэакцый у клетках каранёў арабідопсіса на працягу 15 ч, пасля чаго ўзровень аўтафагіі зніжаецца (верагодна, гэта абумоўлена тым, што на дадзеным этапе нікелевага стрэсу адбываецца пераключэнне з аўтафагіі на пазнейшыя тыпы клеткавай гібелі, у прыватнасці апоптазападобнай ПКС); увядзенне Гіс на фоне нікеля стымулюе раннюю редокс-апасродкаваную актывацыю аўтафагіі (на працягу 3 ч), мабыць, якая мае важную ролю ў распазнанні падвышаных узроўняў Ni^{2+} у асяроддзі і запуску працэсаў адаптацыі. Пры павелічэнні часу экспазіцыі Гіс таксама аказвае пратэктарнае дзеянне, зніжаючы нікель-індукаваную клеткавую гібель.

ABSTRACT

Graduate work 43 p., 13 fig., 50 sources.

NICKEL, NICKEL-HISTIDINE COMPLEXES, AUTOPHAGY, ATG8A, ROOT, ARABIDOPSIS.

Research object: *Arabidopsis thaliana* L. Heynh.

The aim of the work: to test the effect of nickel ions and nickel-histidine complexes on the activity of the autophagy marker ATG8a in the root cells of higher plants.

Research methods: cultivation of *Arabidopsis thaliana* in sterile conditions, analysis of growth parameters, determination of the viability of arabidopsis root cells using fluorescence microscopy, study of the effects of nickel ions and nickel-histidine complexes on the activity of the autophagy marker ATG8a.

As a result, we have shown that autophagy is required for the normal development of plants during ontogenesis, and also plays an important role in adaptation to various biotic and abiotic stresses. The addition of Ni^{2+} to the growing medium in concentrations above 0,3 mM inhibits the increase in the length of the main root, but does not affect the change in the root diameter in the absorption zone and in the division zone; the introduction of His together with nickel in the ratio of 2 His : 1 Ni has a protective effect on the growth of arabidopsis roots; treatment with 0.3–3 mM Ni induces the development of autophagic reactions in arabidopsis root cells for 15 h, after which the level of autophagy decreases (probably, this is due to the fact that at this stage of nickel stress, there is a switch from autophagy to later types of cell death, in particular apoptosis-like PCD); the introduction of His against the background of nickel stimulates early redox-mediated activation of autophagy (within 3 h), apparently playing an important role in recognizing elevated levels of Ni^{2+} in the environment and initiating adaptation processes. With an increase in exposure time, His also has a protective effect, reducing nickel-induced cell death.