

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

Чикун
Полина Вацлавовна

**МОДИФИКАЦИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КАТИОННЫХ
КАНАЛОВ КЛЕТОК КОРНЯ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ ПОД ДЕЙСТВИЕМ
БРАССИНОСТЕРОИДОВ**

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
заведующий кафедрой
д.б.н. В.В. Демидчик

Допущена к защите

«__» _____ 2016 г.

Зав. кафедрой клеточной биологии и биоинженерии растений
доктор биологических наук, доцент В.В. Демидчик

Минск, 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

Оглавление	2
Перечень условных обозначений	3
Реферат	4
Рэферат	5
Abstract	6
Введение	7
Глава 1. Обзор литературных данных	9
1.1 Катионные каналы мембран растительной клетки	9
1.2 Строение и функции БР	12
1.3 Сигнальные пути БР	14
1.3.1 Рецепция brassinosteroidов специализированными рецепторами плазматической мембраны (BRI1)	14
1.3.2 Механизмы первичного взаимодействия BRI1 с БР	15
1.3.3 Взаимодействие BRI1 с трансмембранными киназами SERK	16
1.3.4 Механизм регуляции активности BAK1/SERK рецепторного комплекса	19
1.3.5 Многофункциональность корецепторов SERK	20
1.3.6 Другие сигнальные компоненты взаимодействия с BRI1	21
1.3.7 Функция BIN2 в качестве негативного регулятора БР-сигналинга	23
1.3.8 Роль PP2A фосфатазы в brassinosteroidной сигнальной трансдукции	27
1.3.9 Транскрипционные факторы BZR1 и BES1	27
1.3.10 Другие транскрипционные факторы, участвующие в трансдукции БР-сигнала	29
1.4 Биоинформационный анализ BRI1	32
Глава 2. Материалы и методы исследования	35
2.1 Объект исследования	35
2.2 Культивирование проростков пшеницы в лабораторных условиях	36
2.3 Выделение протопластов из корней пшеницы	36
2.4 Регистрация электрофизиологических характеристик ионных каналов	38
2.5 Статистическая обработка результатов	40
Глава 3. Результаты и их обсуждение	41
3.1 Экзогенное добавление 24-эпикастастерона	41
3.2 Эндогенное добавление 24-эпикастастерона	43
Заключение	49
Список использованных источников	50

Реферат

Дипломная работа: 54 с., 24 рис., 2 табл., 58 ист.

Ключевые слова: ИОННЫЙ КАНАЛ, БРАССИНОСТЕРОИД, 24-ЭПИКАСТАСТЕРОН, ПЭТЧ-КЛАМП, КАЛЬЦИЙ, КАЛИЙ

Целью работы являлось выявление закономерностей воздействия brassinosteroidов на катионные токи через плазматическую мембрану клеток корня пшеницы при помощи методики пэтч-кламп.

В качестве объекта исследования использовались корни проростков *Triticum aestivum* L. В работе были применены современные электрофизиологические методы исследования, в частности техника пэтч-кламп, а также ряд классических подходов физиологии растений, таких как культивирование растений в стандартизованных условиях, выделение протопластов, поддержание изоосмотических условий и др.

В результате проведенных исследований были получены и проанализированы токовые кривые при различных потенциалах фиксации напряжения на плазматической мембране в контрольных условиях и в присутствии brassinosteroidов, в частности, 24-эпикастастерона, 24-эпибрассинолида и 28-гомобрассинолида (1 мкМ). На их основе были построены вольт-амперные характеристики плазматической мембраны, которые выявили наличие нескольких типов проводимостей, активирующихся под действием экзо- и эндогенного 24-эпикастастерона. 24-эпибрассинолид и 28-гомобрассинолид не изменяли проводимость плазматической мембраны в большинстве протопластов. Индуцируемые эпикастастероном токи демонстрировали характеристики, схожие с ранее описанными для клеток корня высших растений деполяризационно-активируемыми K^+ - и Ca^{2+} -каналами. Ca^{2+} -проницаемые проводимости имели колоколообразную вольтамперную характеристику. Ранее подобные эффекты не были показаны для плазматической мембраны клеток корня высших растений.

Работа имеет фундаментальное значение, так как раскрывает ранее неизвестные механизмы влияния brassinosteroidов на корень однодольных растений. Кроме того, данные исследования могут быть использованы на практике при разработке синтетических аналогов стероидных гормонов, обладающих направленным действием на процессы роста и развития, а также стрессоустойчивость высших растений.

Рэферат

Дыпломная работа: 54 с., 24 мал., 2 табл., 58крын.

Ключавыя словы: ІЁННЫ КАНАЛ, БРАСІНАСТЭРОІД, 24-ЭПІКАСТАСТЭРОН, ПЭТЧ-КЛАМП, КАЛЬЦЫЙ, КАЛІЙ

Мэтай работы з'яўлялася выяўленне заканамернасцей ўздзеяння брасінастэроідаў на катыённыя токі праз плазматычную мембрану клетак караня пшаніцы пры дапамозе методыкі пэтч-кламп.

У якасці аб'екта даследавання выкарыстоўваліся карані праросткаў пшаніцы (*Triticum aestivum* L.). У рабоце ужываліся сучасныя электрафізіялагічныя метады даследавання, у прыватнасці, тэхніка пэтч-кламп, а таксама шэраг класічных падыходаў фізіялогіі раслін, такіх як культываванне раслін у стандартызаваных умовах, вылучэнне пратапластаў, падтрыманне ізаасматычных умоў і інш.

У выніку праведзеных даследаванняў былі атрыманы і прааналізаваны токавыя крывыя пры розных патэнцыялах фіксацыі напружання на плазматычнай мембране ў кантрольных умовах і ў прысутнасці брасінастэроідаў, у прыватнасці, 24-эпікастэрона, 24-эпібрасіналіда і 28-гомабрасіналіда (1 мкМ). На іх аснове былі пабудаваныя вольт-амперныя характарыстыкі плазматычнай мембраны, якія выявілі наяўнасць некалькіх тыпаў праводнасцяў, якія актывуюцца пад дзеяннем экза- і эндагеннага эпікастэрона. 24-эпібрасіналід і 28-гомабрасіналід не змянялі праводнасць плазматычнай мембраны ў большасці пратапластаў. Токі, што актывуюцца 24-эпікастэроном, дэманстравалі характарыстыкі, падобныя з раней апісанымі для клетак караня вышэйшых раслін, якія актывуюцца дэпалярызацыяй, K^+ - і Ca^{2+} -каналаў. Ca^{2+} -праводнасць мела звонападобную вольт-амперную характарыстыку. Раней падобныя эфекты не былі паказаны для плазматычнай мембраны клетак караня вышэйшых раслін.

Праца мае фундаментальнае значэнне, так як раскрывае раней неведомыя механізмы ўплыву брасінастэроідаў на карань раслін. Акрамя таго, дадзеныя даследавання могуць быць выкарыстаны на практыцы пры распрацоўцы сінтэтычных аналагаў стэроідных гармонаў, якія валодаюць накіраваным дзеяннем на працэсы росту і развіцця, а таксама стрэсаўстойлівасць вышэйшых раслін.

Abstract

Senior thesis: 54 p., 24 fig., 2 tabl., 58 sour.

Keywords: ION CHANNEL, BRASSINOSTEROIDS, 24-EPICASTASTERONE, PATCH-CLAMP, CALCIUM, POTASSIUM

The aim of the work was to identify patterns of effects of brassinosteroids on cationic currents through the plasma membrane of wheat root cells using the patch-clamp technique.

As the object of the study wheat (*Triticum aestivum* L.) roots have been taken. Conventional patch-clamp techniques were used to investigate cation channel conductances of wheat root plasma membrane

In the whole-cell plasma membrane patches, 24-epibrassinolide, 28-homobrassinolide or 24-epicastasterone (1 μM) were applied exogenously. 24-epicastasterone increased the activity of the K^+ efflux conductance in 50% of tested protoplasts while 24-epibrassinolide and 28-homobrassinolide did not modify the plasma membrane currents. Addition of 24-epicastasterone at the cytosolic side (to the pipette solution) resulted in dramatic stimulation of a time-dependent K^+ efflux current (in 30% of protoplasts) and an activation of Ca^{2+} influx currents (in 30% of protoplasts). The plasma membrane conductance, which was activated by an endogenous 24-epicastasterone, showed bell-like shape with maximal activation at depolarisation voltages. Similar Ca^{2+} currents have been previously characterised in *Arabidopsis thaliana* root epidermal protoplasts.

As a practical goal, further exploration of brassinosteroids effect on higher plant ion channels is predicted to provide new strategies for the regulation of growth and improvement in yield of important crops, designing modern tools in agriculture and biotechnology and increase stress tolerance in crops.