

мембраны клеток высших растений и произвести их электрофизиологический анализ с использованием техники пэтч-кламп. С помощью биоинформационных подходов нами было показано, что в канале GORK, по аналогии с K^+ -каналом SKOR, есть аминокислотный остаток цистеин в 151 положении (Цис-151), который вероятно может выступать в роли АФК-чувствительного центра канала. В этой связи были проведены электрофизиологические тесты при помощи техники пэтч-кламп на протопластах, выделенных из клеток корня *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. В исследовании использовались корни *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh четырех типов: 1) дикий тип Wassilevskija – ‘WS-0’; 2) нокаутные мутанты *gork1-1*, лишенные функционального белка GORK 3) *gork1-1* с возмещенным нативным GORK; 4) *gork1-1*, экспрессирующий GORK с заменой С151S. Введение в наружный раствор смесей, генерирующих гидроксильные радикалы (1 mM $CuCl_2$, 1 mM H_2O_2 , 1 mM L-аскорбиновой кислоты), вызывало многократное увеличение медленно-активирующейся компоненты выходящего тока. У растений-нокаутов *gork1-1*, данная компонента тока отсутствовала, как до, так и после обработки их смесью, генерирующей гидроксильные радикалы. У растений *gork1-1* с возмещенным каналом GORK наблюдалась нормальная активация медленно направленных токов. Линии *gork1-1*, экспрессирующие GORK с заменой цистеина 151 на серин, демонстрировали снижение чувствительности к смесям, генерирующим гидроксильные радикалы. Полученные данные указывают на то, что Цис-151 в комплексе K^+ -канала GORK участвует в прямом взаимодействии с АФК и опосредует активацию данного канала в ответ на продукцию в среде АФК. Таким образом, в данной работе продемонстрирована роль K^+ -каналов GORK в первичных взаимодействиях растительной клетки с АФК. Показано, что в присутствии АФК канал GORK способен катализировать выход K^+ из клеток корня, что вероятно опосредует метаболические перестройки адаптивного характера, а также индукцию запрограммированной клеточной гибели.

Негеномные эффекты brassinosterоидов на уровне плазматической мембраны и систем клеточной сигнализации у высших растений

Стрельцова Д.Е.^{А*}, Гриусевич П.В.^А, Савчук А.Л.^Б, Жабинский В.В.^Б, Хрипач В.А.^Б, Соколик А.И.^А, Демидчик В.В.^А

^А Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: straltsova@bsu.by

^Б Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Стероидные гормоны играют роль сигнальных молекул у животных и у растений. В организме животных они реализуют физиологическое действие при помощи геномного и негеномного механизмов. Геномный путь влияния опосредуется внутриклеточными рецепторами. Негеномный механизм не затрагивает напрямую генетический аппарат, а проявляется во взаимодействии с рецепторами плазматической мембраны и системами ионного транспорта, такими как Ca^{2+} -проницаемые ионные каналы. Негеномный путь включает быстрый ответ на метаболическом уровне; он может в дальнейшем приводить и к изменению генетической экспрессии. У растений не обнаружено генов членов суперсемейства ядерных рецепторов, также как не описаны и негеномные пути реализации эффектов стероидных гормонов растений – brassinosterоидов (БС). В связи целью работы являлось выявление и детальное исследование быстрых реакций транспортно-

сигнальных систем плазматической мембраны растительной клетки на введение в среду brassinosterоидов. В работе были использованы корни яровой пшеницы (*Triticum aestivium* L., 'Василиса') и арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* L. Heynh). Применялась техника пэтч-кламп и Ca^{2+} -эквориновая хемиллюминетрия. Для тестирования транспорта БС через плазматическую мембрану был использован каастерон с ковалентно-прикрепленным BODIPY или флуоресцеина (Институт биоорганической химии НАН Беларуси). Измерение кинетики входа трейсера Ca^{2+} ($^{90}\text{Sr}^{2+}$) выполнялось с помощью метода меченных атомов. Люминетрические измерения показали, что 28-гомобрассинолид, 24-эпибрассинолид и 24-эпикаастерон индуцируют временное повышение $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит.}}$, достигающее пика 2-3 мин после введения БС в окружающий раствор. Эффект развивался при концентрациях БС выше 10 мкмоль/л, достигая максимума при 400 мкмоль/л. Реакция была чувствительна к Gd^{3+} , что указывает на вовлечение Ca^{2+} -проницаемых каналов плазматической мембраны в процессы входа Ca^{2+} , активируемые БС. Электрофизиологические тесты (пэтч-кламп) показали, что 24-эпибрассинолид и 28-гомобрассинолид не изменяют проводимости плазматической мембраны в большинстве протопластов при их экзо- и эндогенном введении. В то же время 24-эпикаастерон при его введении как в наружный, так и во внутренний растворы (пипетка пэтч-кламп) вызывал увеличение конститутивных наружу-выпрямляющих K^{+} -токов. Эндогенное введение 24-эпикаастерона также вызывало у части протопластов активацию уникальных деполаризационно-активируемыи Ca^{2+} -проницаемых катионных каналов (Depolarization-Activated Calcium Channels: DACC), ранее описанных только для небольшой группы объектов. Добавление в наружный раствор 1 мкмоль/л 24-эпикаастерона не изменяло скорость накопления $^{90}\text{Sr}^{2+}$ корнями пшеницы. Иммуоферментный анализ уровня БС в корнях пшеницы показал, что они содержат как БС лактоновой, так и кетоновой группы. БС первой группы доминировали количественно. С помощью флуоресцентно-меченных БС было установлено, что БС в течение 1 часа способны проникать в детектируемое количество внутрь растительной клетки (протопласты и целый корень) из окружающего раствора. В результате проведенной работы можно сделать следующие выводы: 1) БС индуцируют реакции Ca^{2+} -сигнализации в клетках корня высших растений, т.е. обладают выраженными негеномными эффектами; 2) БС активируют токи калия и кальция через плазматическую мембрану протопластов, выделенных из клеток корня пшеницы; 3) БС проникают через плазматическую мембрану клеток корня, т.е. потенциально могут влиять на транспортные и сигнальные системы со стороны цитоплазмы. Работа выполнена в рамках гранта БРФФИ № Б15М-014.

Ответная реакция клеток *Nitella flexilis* на присутствие в среде гербицидов атрибута, прометрекса, глифосата и фюзилада

Яковец О.Г.*; Андала Т.С.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: yakovets@inbox.cu

Клетки харовых водорослей являются классическим объектом для исследования быстрой реакции растительного организма на изменяющиеся условия окружающей среды. Для этого в качестве тест-реакции можно использовать биоэлектрические характеристики плазмалеммы клеток, а также скорость движения цитоплазмы. При