

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений

ГАНЖАЖАРА

Ангелина Николаевна

АНАЛИЗ РОЛИ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ В ПЕРЕДАЧЕ
ФИТОГОРМОНАЛЬНЫХ СИГНАЛОВ В КЛЕТКАХ КОРНЯ
ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
Биолог компании АртБиоТех
Войтехович М. А.

Минск, 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

Перечень условных обозначений.....	3
Реферат.....	4
Введение.....	7
Глава 1 Обзор литературы.....	9
1.1 Кальций-проницаемые каналы растений.....	9
1.2 Влияние фитогормонов на кальций-проницаемые каналы растений.....	12
1.3 Ca^{2+} -сигнализация в жизни растений.....	13
Глава 2 Материалы и методы исследования.....	17
2.1 Объект исследования.....	17
2.2 Методы исследования.....	19
2.2.1 Культивирование проростков <i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh. в стерильных условиях.....	19
2.2.2 Кальций-эквориновая люминометрия.....	20
2.3 Статистическая обработка результатов.....	22
Глава 3 Результаты и их обсуждение.....	23
3.1 Воздействие индолил-3-уксусной кислоты на уровень активности ионов кальция в цитоплазме клеток корня высших растений.....	23
3.2 Влияние блокаторов катионных каналов и эпибрасинолида на индуцированное индолилуксусной кислотой повышение уровня кальция в цитоплазме клеток корня высших растений.....	25
Заключение.....	29
Список использованной литературы.....	30

РЕФЕРАТ

Дипломная работа: 32 страницы, 7 рисунков, 1 таблица, 40 источников.

ИОНЫ КАЛЬЦИЯ, ЭКВОРИНОВАЯ ЛЮМИНОМЕТРИЯ, ИНДОЛИЛУКСУСНАЯ КИСЛОТА, ЭПИБРАССИНОЛИД, ГАДОЛИНИЙ, КОРНИ *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.).

Цель работы: протестировать влияние индолилуксусной кислоты и ее сочетанного действия с блокаторами катионных каналов и эпибрасинолидом на изменение уровня кальция в цитоплазме клеток корня *Arabidopsis thaliana* (L.).

Исследования проводились с использованием методики Ca^{2+} -эквориновой хемилюминесценции на интактных корнях 7-12-дневных проростках арабидопсиса, конститутивно экспрессирующих фотобелок экворин.

При исследовании влияния индолилуксусной кислоты на Ca^{2+} -проницаемые ионные каналы в плазматической мембране было показано, что индолилуксусная кислота напрямую вызывает увеличение содержания $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит.}}$ и активирует вход Ca^{2+} в клетки корня, вызывая временный обратимый рост данного иона в цитоплазме. Данный эффект был обнаружен при концентрации индолилуксусной кислоты выше 1 мМ, достигая максимума при 3 мМ. Анализ типичных кривых временного хода изменения $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит.}}$ на введение в наружный раствор 2 мМ индолилуксусной кислоты показал значительное увеличение уровня $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит.}}$. Увеличение $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит.}}$ имело временный характер, в течение 10-15 минут его уровень возвращался к базальному. Такие изменения $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит.}}$ типичны для развития так называемой « Ca^{2+} -волны» и свидетельствуют о запуске кальциевой сигнализации растений. Таким образом, было показано, что индолилуксусная кислота способна вызывать резкое увеличение кальция в цитоплазме, вызванное активацией кальций-проницаемых катионных каналов и входом кальция в клетку, что подтверждается в экспериментах с добавлением блокаторов катионных каналов. Эпибрасинолид частично ингибировал воздействие индолилуксусной кислоты на рост кальция в цитоплазме.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа: 32 старонкі, 7 ілюстрацый, 1 табліца, 40 выкарыстаных крыніц.

ІЁНЫ КАЛЬЦЫЯ, ЭКВАРЫНАВАЯ ЛЮМІНАМЭТРЫЯ, ІНДАЛІЛУКУСНАЯ КІСЛАТА, ЭПІБРАСІНАЛІД, ГАДАЛІНІЙ, КАРАНІ *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.)

Мэта работы: пратэставаць ўплыў індалілукуснай кіслаты і яе сочетаннага дзеяння з блокаторы катыённых каналаў і эпібрасіналідам на змяненне ўзроўню кальцыя ў цытаплазме клетак *Arabidopsis thaliana* (L.).

У даследаванні выкарыстоўвалася методыка Ca^{2+} -экварынавай хемілюмінаметрыі на інтактавых каранях 7-12-дзённых праросткаў арабідопсіса, канстытуцыйна экспрэсуючых фотабялок экварын пад кантролем віруснага прамоўтэра S35 у цытаплазме.

Пры даследаванні ўплыву індалілукуснай кіслаты на Ca^{2+} -прапушчальныя іённыя каналы ў плазматычнай мембране было паказана, што індалілукусная кіслата найпрост выклікае павелічэнне ўтрымання $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цыт.}}$ і актывуе ўваход іёнаў Ca^{2+} у клеткі караня, выклікаючы часовы зварачальны рост дадзенага іёна ў цытаплазме. Дадзены эффект быў знойдзены пры канцэнтрацыі індалілукуснай кіслаты вышэй 1 мМ, дасягаючы максімуму пры 3 мМ. Аналіз тыповых крывых часовага ходу змены $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цыт.}}$ на ўвядзенне ў вонкавы раствор 2 мМ індалілукуснай кіслаты паказаў значнае павелічэнне ўзроўню $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цыт.}}$. Павелічэнне $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цыт.}}$ мела часовы характар, на працягу 10-15 хвілін яго ўзровень вяртаўся да базальнага. Такія змены $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цыт.}}$ тыповыя для развіцця так званай « Ca^{2+} -хвалі» і сведчаць аб запуску кальцыевай сігналізацыі раслін. Такім чынам, было паказана, што індалілукусная кіслата здольная выклікаць рэзкае павелічэнне кальцыя ў цытаплазме, выкліканае актывацыяй кальцый-пранікальных катыённых каналаў і ўваходам кальцыя ў клетку, што пацвярджаецца ў эксперыментах з даданнем блокаторов катыённых каналаў. ЭБ часткова інгібіраваў ўздзеянне індалілукуснай кіслаты на рост кальцыя ў цытаплазме.

ABSTRACT

Thesis contents: 32 pages, 7 illustrations, 1 table, 40 sources.

CALCIUM IONS, AEQUORIN LUMINOMETRY, INDOLEACETIC ACID, EPIBRASSINOLIDE, GADOLINIUM, ROOTS OF *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.).

The aim of the work: to test the effect of indolylacetic acid and its combined action with cation channel blockers and epibrassinolide on the change in calcium levels in the cytoplasm of *Arabidopsis thaliana* (L.) cells.

The study was conducted using Ca^{2+} -aequorin chemiluminometry on the intact roots of 7-12-days old *Arabidopsis* seedlings, modified to constitutively express a cytoplasm-localized luminescent protein aequorin under the control of the S35 viral promotor.

When studying the effect of indolylacetic acid on Ca^{2+} -permeable ion channels in the plasma membrane, it was shown that IUC directly causes an increase in the content of $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt.}}$ and activates the entry of Ca^{2+} ions into root cells, causing a temporary reversible growth of this ion in the cytoplasm. This effect was detected at a concentration of indolylacetic acid above 1 mM, reaching a maximum at 3 mM. Analysis of typical curves of the time course of change of $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt.}}$ on the introduction of 2 mM into the external solution, the indolylacetic acid showed a significant increase in the level of $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt.}}$. The increase in $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt.}}$ was temporary, within 10-15 minutes its level returned to basal. Such changes in the $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt.}}$ are typical for the development of the called " Ca^{2+} -wave" and indicate the launch of calcium signaling in plants. Thus, it has been shown that indolylacetic acid is capable of causing a sharp increase in calcium in the cytoplasm caused by the activation of calcium-permeable cation channels and the entry of calcium into the cell, which is confirmed in experiments with the addition of cation channel blockers. The epibrassinolide partially inhibited the effect of indolylacetic acid on the growth of calcium in the cytoplasm.