

Как засуха и сероводород меняют структуру мембран митохондрий эпикотилей проростков гороха

**Герасимов Н. Ю.^{А*}, Неврова О. В.^А, Жигачева И. В.^А,
Генерозова И. П.^Б, Голощапов А. Н.^А**

^А Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, ул. Косыгина, 4, Москва, 119334, Россия *E-mail: n.yu.gerasimov@gmail.com

^Б Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая, 35, Москва, 127276, Россия

Семена растения в период прорастания очень уязвимы к внешним воздействиям, в том числе, к обезвоживанию. В этих условиях активизируется сигнальная система защиты растения, в состав которой входит сероводород (H₂S). Предполагают, что в ответ на стресс сероводород регулирует активность антиоксидантных ферментов: аскорбатпероксидазы, глутатионредуктазы, гваяколпероксидазы, каталазы супероксиддисмутазы (СОД). Это приводит к снижению уровня активных форм кислорода (АФК), H₂O₂, супероксид-аниона, продуктов окисления липидов, и, в свою очередь, может влиять на целостность мембраны.

Поэтому было интересным изучить влияние засухи на изменение структуры мембран в период прорастания семян и активность защитных ферментов, например, СОД, при действии экзогенного NaHS.

Исследования проводили на митохондриях пятидневных этиолированных проростков гороха *Pisum sativum* L., сорт Немчиновский 100. Митохондрии выделяли из эпикотилей проростков гороха всех исследуемых групп методом дифференциального центрифугирования в калий-фосфатном буфере. Регистрацию потребления кислорода митохондриями проводили полярографическим методом, используя полярограф LP-7 и кислородный электрод типа Кларка. Микровязкость липидного бислоя мембран определяли методом электронного парамагнитного резонанса спиновых зондов, таких как стабильные нитроксильные радикалы 2,2,6,6-тетраметил-4-каприлоилоксилпиперидин-1-оксил (зонд I, липидный) и 5,6-бензо-2,2,6,6-тетраметил-1,2,3,4-тетрагидрокарболин-3-оксил (зонд II, белковый).

Для оценки структуры мембран были получены температурные зависимости времен вращательной корреляции зондов I и II для контрольной группы и при воздействии NaHS в дозах $6 \cdot 10^{-3}$, $2 \cdot 10^{-4}$ и $5 \cdot 10^{-6}$ М. Показано, что обработка семян NaHS приводила к сдвигу обоих термоиндуцированных переходов липидных и прибелковых областей мембран митохондрий в область более низких температур относительно контроля. Это указывает на уменьшение кристалличности липидного бислоя. Кроме того, микро-

вязкость обеих областей мембран митохондрий была увеличена. Такое изменение микровязкости мембран митохондрий на фоне уменьшения их кристалличности может быть объяснено одновременным накоплением осмолитов и увеличением активности антиоксидантных ферментов при воздействии экзогенного NaHS. При этом, количество АФК уменьшалось, что приводило к накоплению ненасыщенных жирных кислот, тем самым приводя к уменьшению кристалличности липидного бислоя. Также, были изучены биоэнергетические характеристики митохондрий.

Влияние донора оксида азота (II) на структуру мембран митохондрий эпикотилей проростков гороха

**Герасимов Н. Ю.^{А*}, Неврова О. В.^А, Жигачева И. В.^А,
Крикунова Н. И.^А, Генерозова И. П.^Б, Голощанов А. Н.^А**

^А *Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, ул. Косыгина, 4, Москва, 119334, Россия, *E-mail: n.yu.gerasimov@gmail.com*

^Б *Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая, 35, Москва, 127276, Россия*

Донор оксида азота натрий- μ 2-дитиосульфатотетранитрозил-диферрат тетрагидрата (ТНКЖ-тио) способен защищать растения от температурного шока путем предотвращения дисфункции митохондрий. При этом, ТНКЖ-тио, генерируя NO и комплекс $[\text{Fe}(\text{S}_2\text{O}_3)]$, может обладать амбивалентными свойствами. Выработка большого количества активных форм кислорода на мембранах митохондрий может приводить к увеличению уровня пероксидного окисления липидов (ПОЛ) и окислительному стрессу, влияя на структуру и состав мембран. Поэтому целью работы была изучить действие ТНКЖ-тио на структуру мембран митохондрий, выделенных из эпикотилей проростков гороха в норме.

Кристаллический водорастворимый донор оксида азота ТНКЖ-тио был синтезирован в Институте проблем химической физики РАН (Черноголовка, Московская обл.). Контрольные семена гороха сорта Немчиновский 100 замачивали в воде, опытные семена – в 10^{-8} М и 10^{-4} М ТНКЖ-тио в течение 1 ч. Митохондрии выделяли из эпикотилей проростков гороха методом дифференциального центрифугирования в калий-фосфатном буфере. Для приготовления образца митохондрии разбавляли в среде выделения таким образом, чтобы содержание белка в конечном растворе составляло 2 мг/мл. Из полученных ЭПР-спектров спиновых зондов рассчитывали время корреляции вращательной подвижности (τ_c), характеризующее микровязкость компонентов мембраны, по формуле