

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

АРЗАМАЗКИНА Кристина Игоревна

**ЭФФЕКТ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ НА ПРОДУКЦИЮ
ГИДРОКСИЛЬНОГО РАДИКАЛА В УСЛОВИЯХ *IN VITRO* И
*IN VIVO***

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
Старший преподаватель
В. С. Мацкевич

Допущена к защите
«__» _____ 2025 г.

Зав. кафедрой клеточной биологии и биоинженерии растений
кандидат биологических наук, доцент
_____ О.Г. Яковец

Минск, 2025

РЕФЕРАТ

Дипломная работа: 39 страниц, 14 рисунков, 1 таблица, 34 источника.

Ключевые слова: активные формы кислорода, гидроксильный радикал, свободные аминокислоты, ЭПР-спектроскопия, ди-гидроэтидий, арабидопсис.

Объект исследования: проростки *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

Цель: оценить способность различных аминокислот влиять на продукцию гидроксильного радикала в условиях *in vitro* и *in vivo*

Методы исследования: ЭПР-спектроскопия с использованием спиновых ловушек ДМПО и ПОБН, выращивание арабидопсиса в стерильных условиях, анализ накопления АФК в клетках корня с использованием эпифлуоресцентной микроскопии и флуоресцентного зонда ди-гидроэтидий.

В ходе работы было показано, что смесь 1 ммоль/л Cu^{2+} /АК/ H_2O_2 вызывает увеличение ЭПР-сигнала ДМПО-НО $\cdot$ в 70 раз по сравнению с контролем. Гистидин, пролин, аланин и аспарагин в концентрации 1 ммоль/л не влияют на ЭПР-сигнал. При добавлении аминокислот в смесь, генерирующую гидроксильные радикалы, аспарагин снижает ЭПР-сигнал на 90%, аланин – на 95%, а гистидин – на 80% по сравнению с контролем. Обработка проростков арабидопсиса смесью 1 ммоль/л Cu^{2+} /АК/ H_2O_2 вызывает накопление АФК в клетках корней, при этом зона деления является более чувствительной по сравнению с зоной всасывания. В случае кончиков корней интенсивность сигнала ДГЭ резко возрастает с увеличением времени инкубации в Cu^{2+} /АК/ H_2O_2 , достигая максимума на 75 мин, после чего сигнал резко снижается; в зоне всасывания наблюдается постоянное увеличение флуоресценции. Аминокислоты пролин, гистидин, аланин и аспарагин способны снижать генерацию активных форм кислорода в корнях *Arabidopsis thaliana* при обработке смесями, генерирующими гидроксильные радикалы, что может быть использовано в сельском хозяйстве и при селекции устойчивых сортов.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа: 39 старонак, 14 малюнкаў, 1 табліца, 34 крыніцы.

Ключавыя словы: актыўныя формы кіслароду, гідраксільны радыкал, свабодныя амінакіслоты, ЭПР-спектраметрыя, дыгідраэтыдыум, арабідопсіс.

Аб'ект даследавання: праросткі *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

Мэта: ацаніць здольнасць розных амінакіслот уплываць на прадукцыю гідраксільнага радыкала ва ўмовах *in vitro* і *in vivo*.

Метады даследавання: ЭПР-спектраметрыя з выкарыстаннем спінавых пастак ДМПО і ПОБН, вырошчванне арабідопсіса ў стэрыльных умовах, аналіз назапашвання АФК у клетках караня з выкарыстаннем эпіфлуарэсцэнтнай мікраскапіі і флуарэсэнтнага зонда дыгідраэтыдыум.

У ходзе работы было паказана, што сумесь 1 ммоль/л $\text{Cu}^{2+}/\text{АК}/\text{H}_2\text{O}_2$ выклікае павелічэнне ЭПР-сігналу ДМПО-НО ў 70 разоў у параўнанні з кантролем. Гістыдын, пралін, аланін і аспарагін у канцэнтрацыі 1 ммоль/л не ўплываюць на ЭПР-сігнал. Пры даданні амінакіслот у сумесь, якая генеруе гідраксільныя радыкалы, аспарагін зніжае ЭПР-сігнал на 90%, аланін – на 95%, а гістыдын – на 80% у параўнанні з кантролем. Апрацоўка праросткаў арабідопсісу сумессю 1 ммоль/л $\text{Cu}^{2+}/\text{АК}/\text{H}_2\text{O}_2$ выклікае назапашванне АФК у клетках каранёў, пры гэтым зона дзялення з'яўляецца больш адчувальнай у параўнанні з зонай усмоктвання. У выпадку кончыкаў каранёў інтэнсіўнасць сігналу ДГЭ рэзка ўзрастае з павелічэннем часу інкубацыі ў $\text{Cu}^{2+}/\text{АК}/\text{H}_2\text{O}_2$, дасягаючы максімуму на 75 хвіліне, пасля чаго сігнал рэзка зніжаецца; у зоне ўсмоктвання назіраецца пастаяннае павелічэнне флуарэсцэнцыі. Амінакіслоты пралін, гістыдын, аланін і аспарагін здольны зніжаць генерацыю актыўных формаў кіслароду ў каранях *Arabidopsis thaliana* пры апрацоўцы сумесямі, якія генеруюць гідраксільныя радыкалы, што можа быць выкарастана ў сельскай гаспадарцы і пры селекцыі ўстойлівых гатункаў.

ABSTRACT

Diploma project: 39 pages, 14 figures, 1 table, 34 sources.

Keywords: reactive oxygen species, hydroxyl radical, free amino acids, EPR spectrometry, dihydroethidium, *Arabidopsis*.

Object of research: seedlings of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

Aim: to evaluate the ability of various amino acids to influence hydroxyl radical production in vitro and in vivo

Methods: EPR spectrometry using DMPO and POBN spin traps, *Arabidopsis* cultivation under sterile conditions, and analysis of ROS accumulation in root cells using epifluorescence microscopy and the fluorescent probe dihydroethidium.

This work showed that a mixture of 1 mmol/L Cu^{2+} /AA/ H_2O_2 causes a 70-fold increase in the EPR signal of DMPO- $\text{HO}^\bullet$ compared with the control. Histidine, proline, alanine and asparagine at a concentration of 1 mmol/L have no effect on the EPR signal. When added to the mixture generating hydroxyl radicals, asparagine reduces the EPR signal by 90%, alanine by 95%, and histidine by 80% compared to the control. Treatment of *Arabidopsis* seedlings with a 1 mmol/L Cu^{2+} /AA/ H_2O_2 mixture induces ROS accumulation in root cells, with the division zone being more sensitive than the absorption zone. In the case of root tips, the intensity of the DHE signal increases sharply with extending incubation time in Cu^{2+} /AA/ H_2O_2 , reaching a maximum at 75 min, after which the signal decreases sharply; the absorption zone shows a constant increase in fluorescence. The amino acids proline, histidine, alanine, and asparagine are able to reduce the generation of reactive oxygen species in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh roots when treated with mixtures generating hydroxyl radicals, which can be used in agriculture and in the selection of resistant varieties.