

Курсовая работа

Сравнение изоферментных спектров
антиоксидантных ферментов у арабидопсиса при
ХОЛОДОВОМ закаливании этиленовых мутантов
etr1-1 и ein 2-1

Выполнил: Карпов Никита

Научный руководитель: Синькевич Максим Сергеевич

Место работы: Московская сельскохозяйственная академия
имени К. А. Тимирязева, лаборатория морозостойкости
растений

2015;

СУНЦ МГУ им. А.Н.Колмогорова

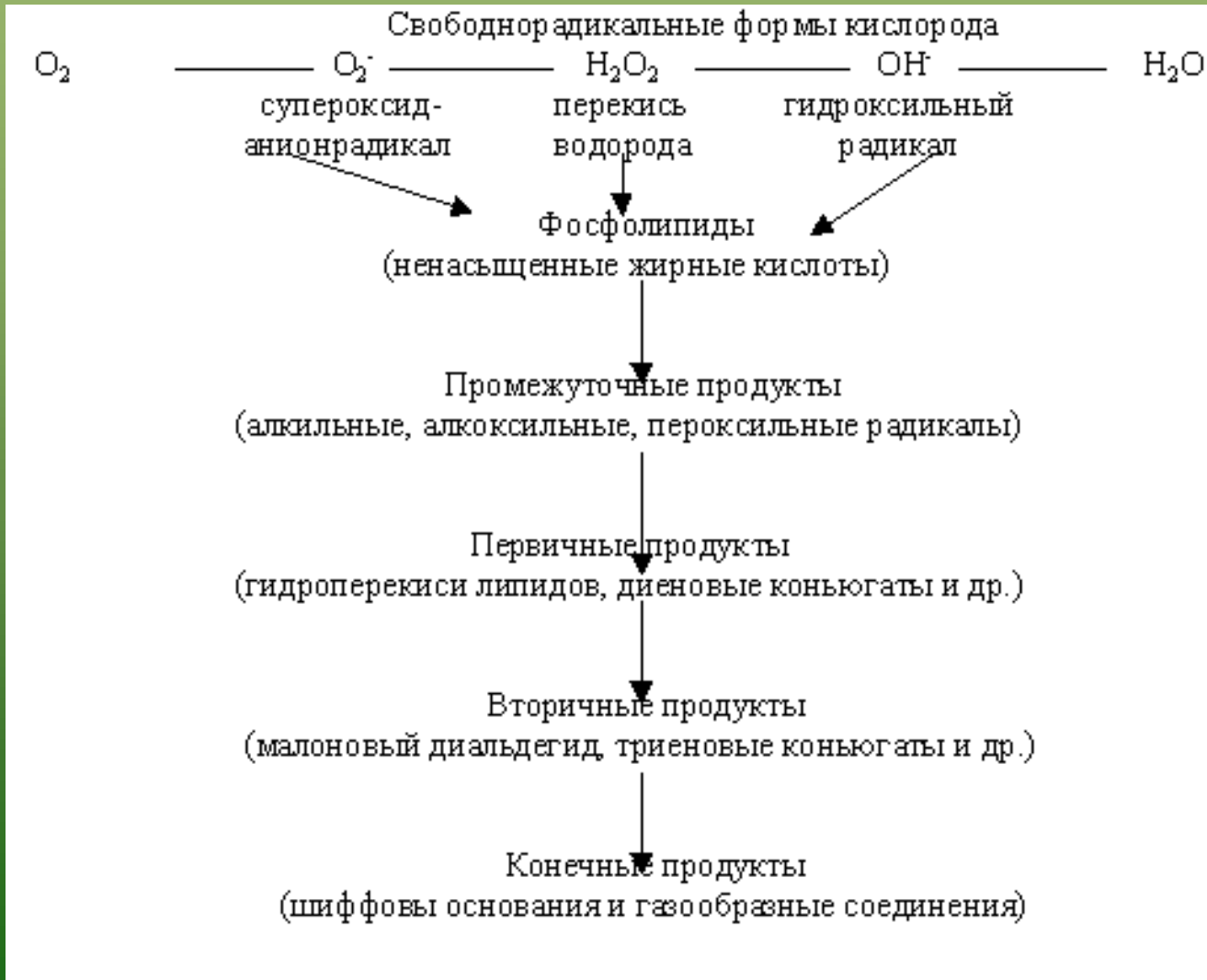
karpov_nik@inbox.ru

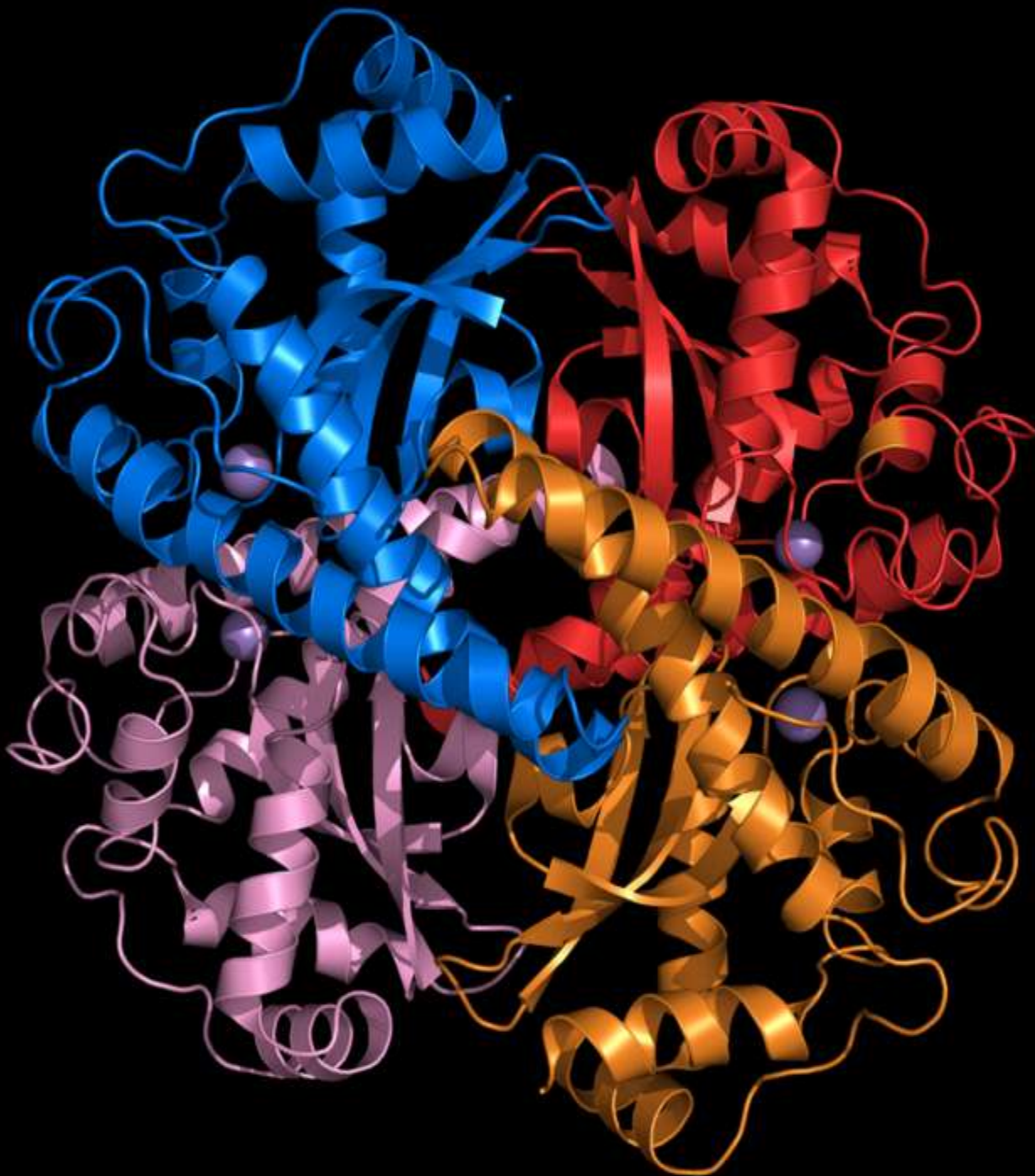
Стресс. Холодовой стресс.

- Стресс - это неспецифическое изменение метаболизма, происходящее в три стадии:
- 1. Первичное стрессовое воздействие
- 2. Адаптация
- 3. Истощение ресурсов надежности при слишком длительном или сильном воздействии

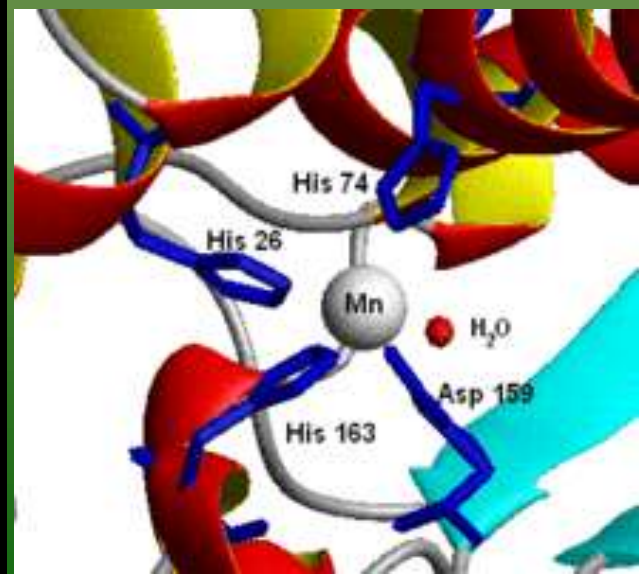


Накопление АФК. Повреждение мембран

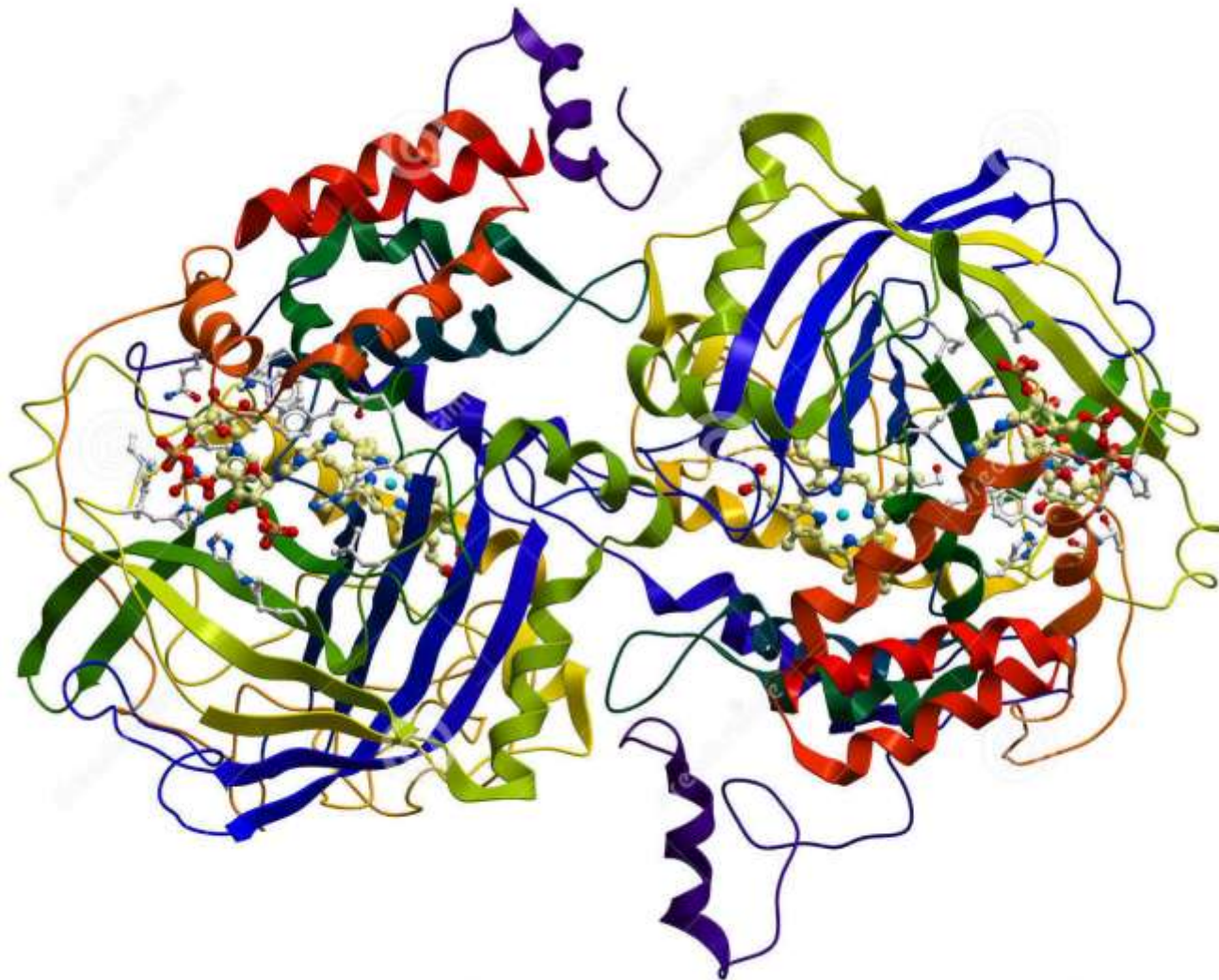




Суперокси- дисмутаза



Каталаза



Download from
Dreamstime.com

This watermarked copy is for previewing purposes only.

33622476

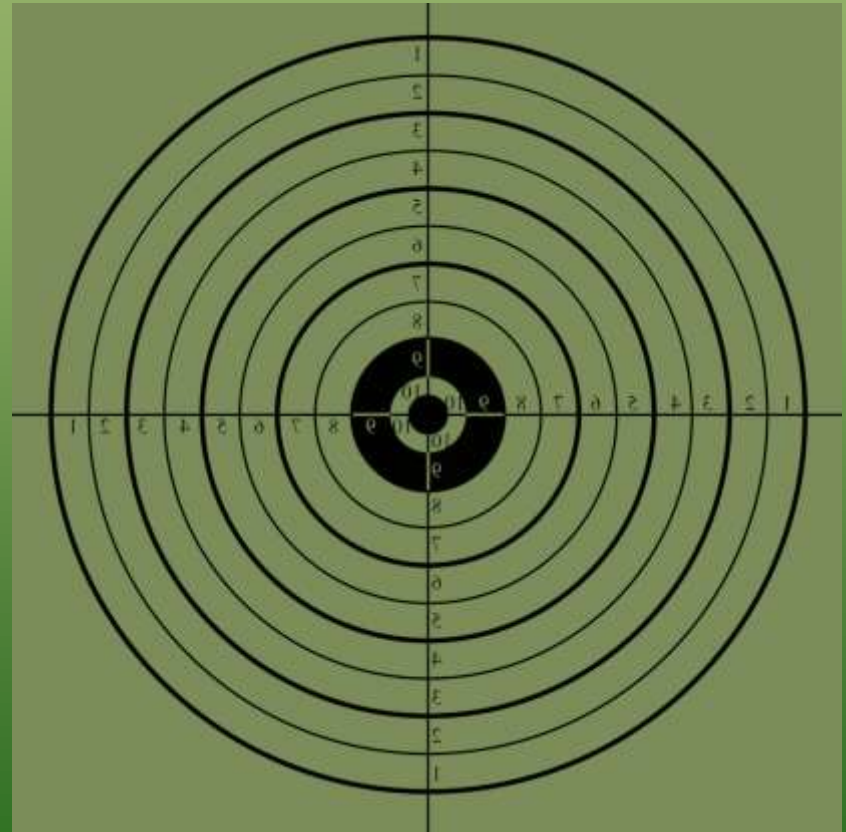
Leonid Andronov | Dreamstime.com

Акклиматизация и её роль

- Закаливание – это, *de facto*, чрезвычайно мягкий вариант стресса, при котором происходит относительно небольшая нагрузка на антиоксидантную систему. В результате процесса закаливания морозоустойчивость организма резко повышается.

Цель

- Сравнить изоферментные спектры антиоксидантных ферментов у Арабидопсиса при холодовом закаливании мутантов *etr 1-1* и *ein 2-1*,
- выяснение активности рассмотренных изоформ и
- проверка предполагаемой негативной связи с этиленовой регуляцией.

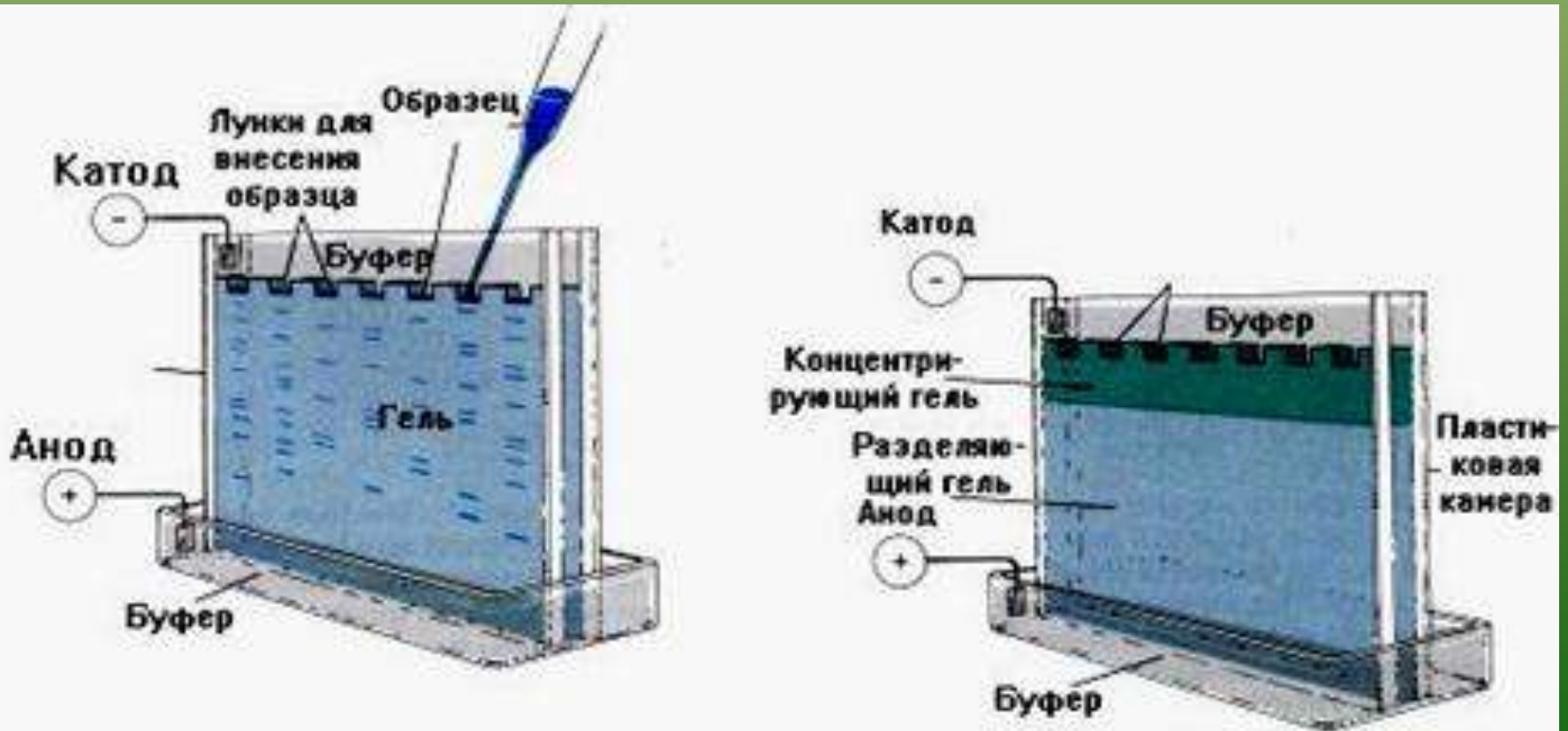


Задачи

- Получить данные о выживаемости изученных мутантов и дикого типа после воздействия повреждающей температуры
- Оценить интенсивность окислительных процессов в ходе закаливания (ПОЛ)
- Определить скорость генерации супероксидного аниона у мутантов и дикого типа
- Определение изоферментного состава СОД
- Определение изоферментного состава каталазы

Методы: Генерация супероксидных анион-радикалов

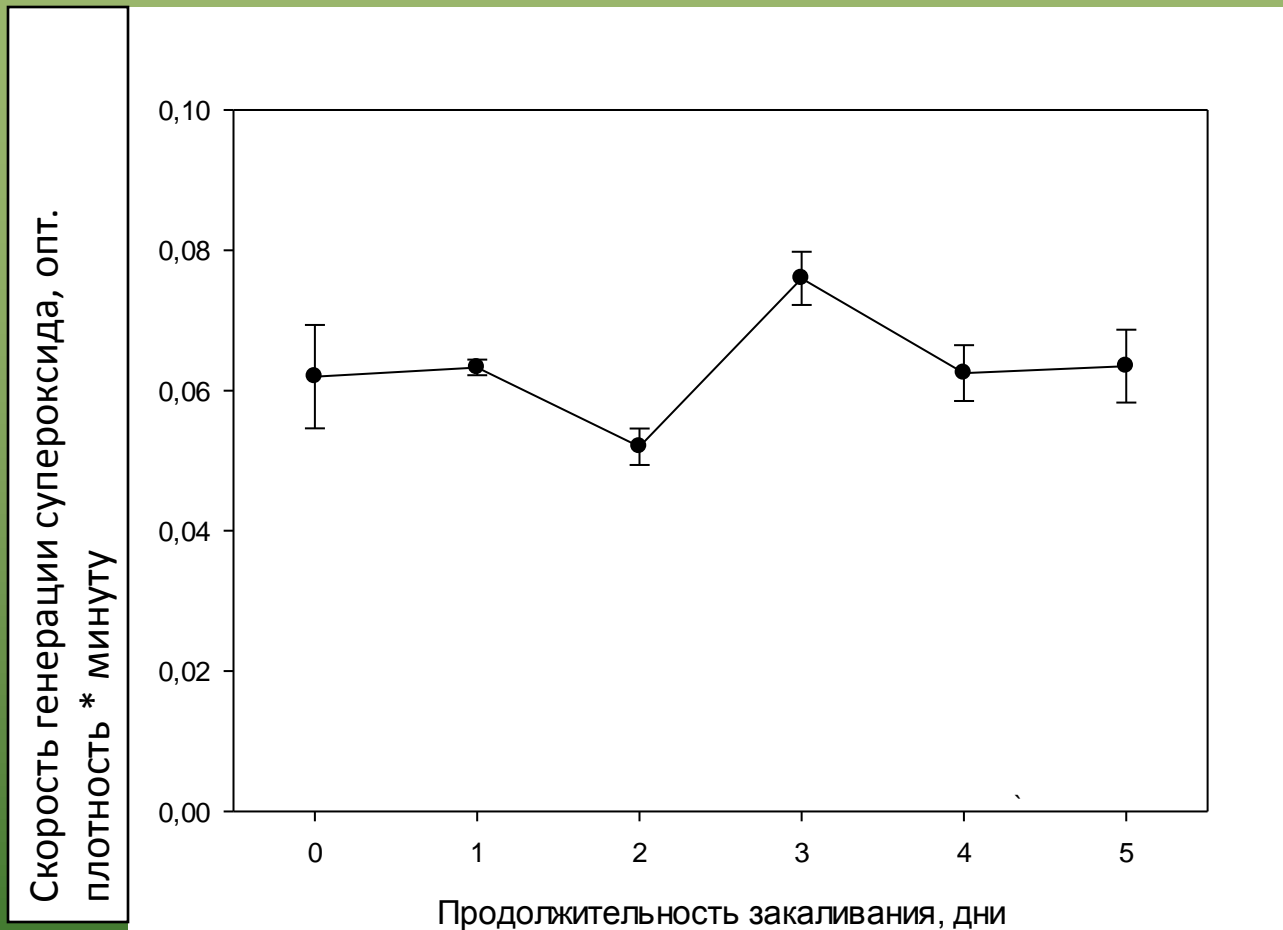
- Гель-электрофорез
- Выделение белкового экстракта
- Спектрофотометрия



Результаты и обсуждения.



- Рис 1. Внешний вид растений после промораживания при -3°C в течение суток. Справа – незакаленные, в центре – после 1 суток закаливания, слева – после 2 суток закаливания.



- Рис. 2 Скорость генерации супероксидного анион-радикала в динамике закаливания

	Col-0	Etr 1-1	Ein 2-1
После 3 суток	0,071	0,052	0,053
	0,064	-	0,108
После 4 суток	0,065	0,053	0,074
	0,086	0,072	0,078
После 5 суток	0,059	0,040	0,076
	0,070	0,070	0,073
незакале нные	0,078	0,044	0,044
	0,056	0,045	0,058

Таблица 1

Интенсивность ПОЛ у экотипа Col-0, и мутантов по этилену: etr 1-1, ein 2-1 после продолжительного закаливания при 2°C [optical density at 532 nm waveleght], 2 повторности по 4 растения

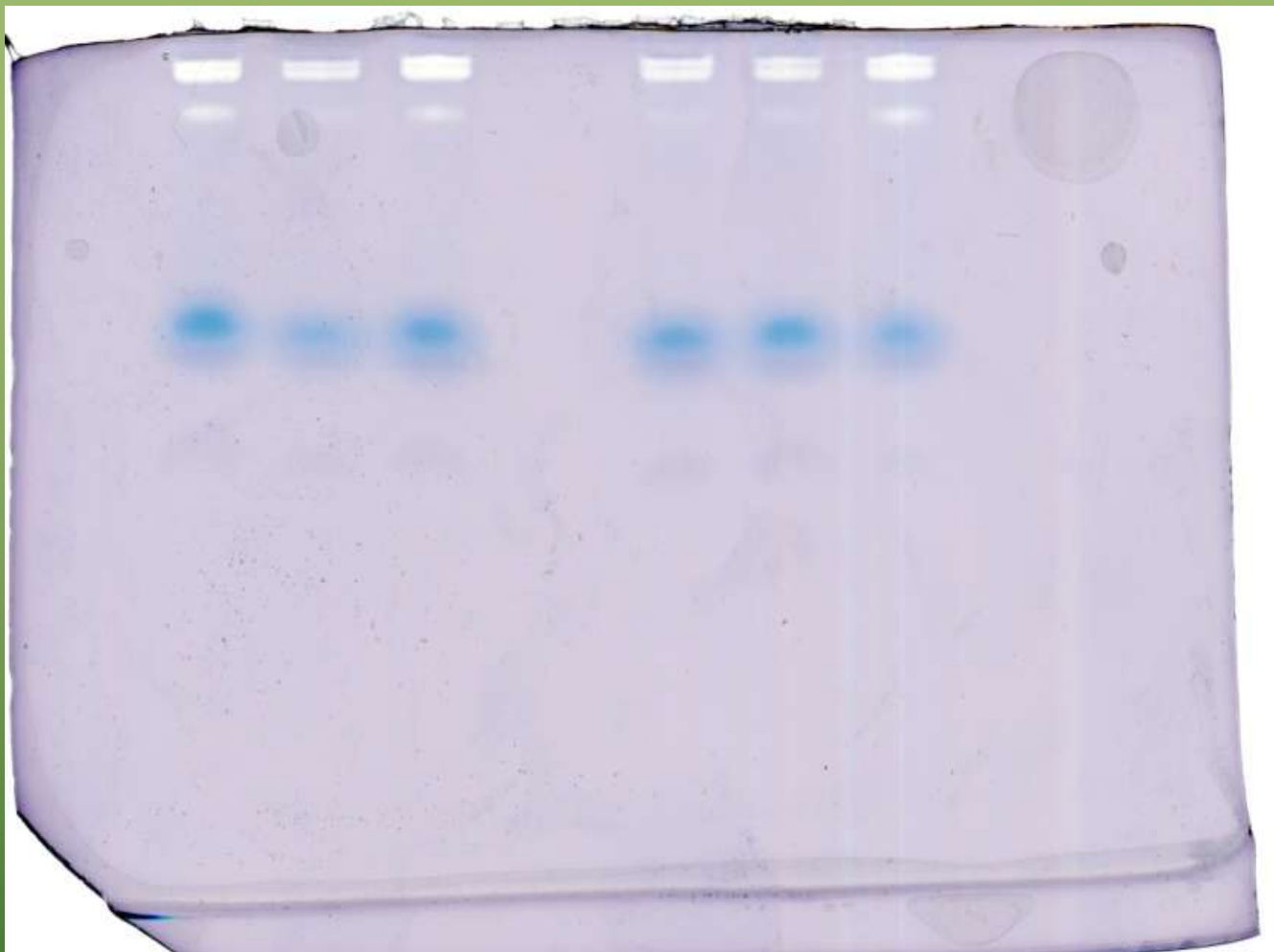


Рисунок 3

Изоферментный спектр СОД арабидопсиса дикого типа на 3-5 сутки

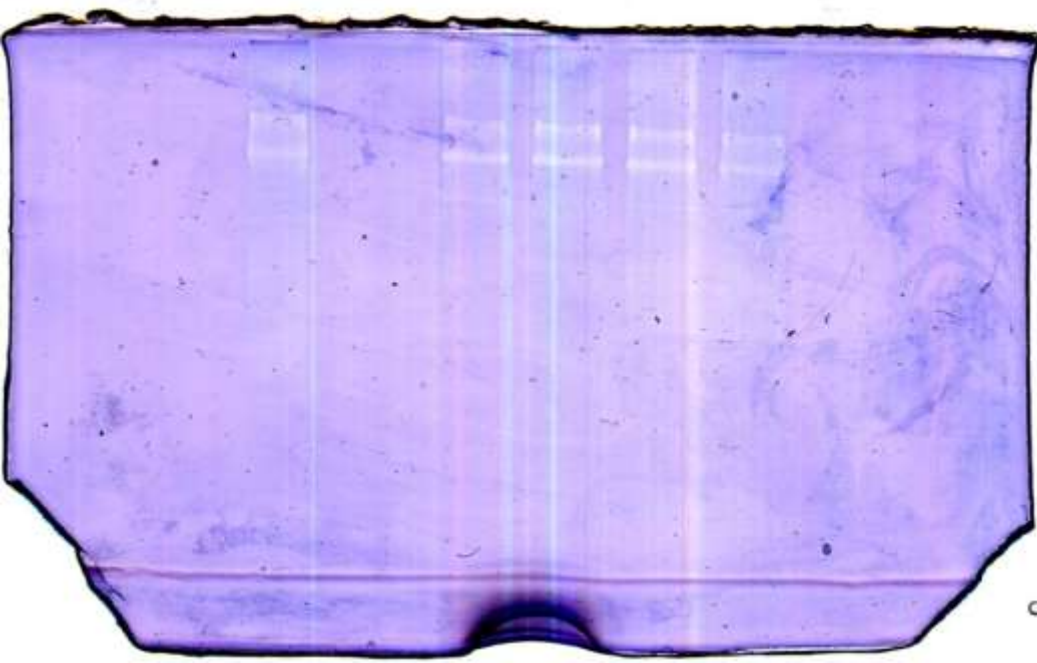
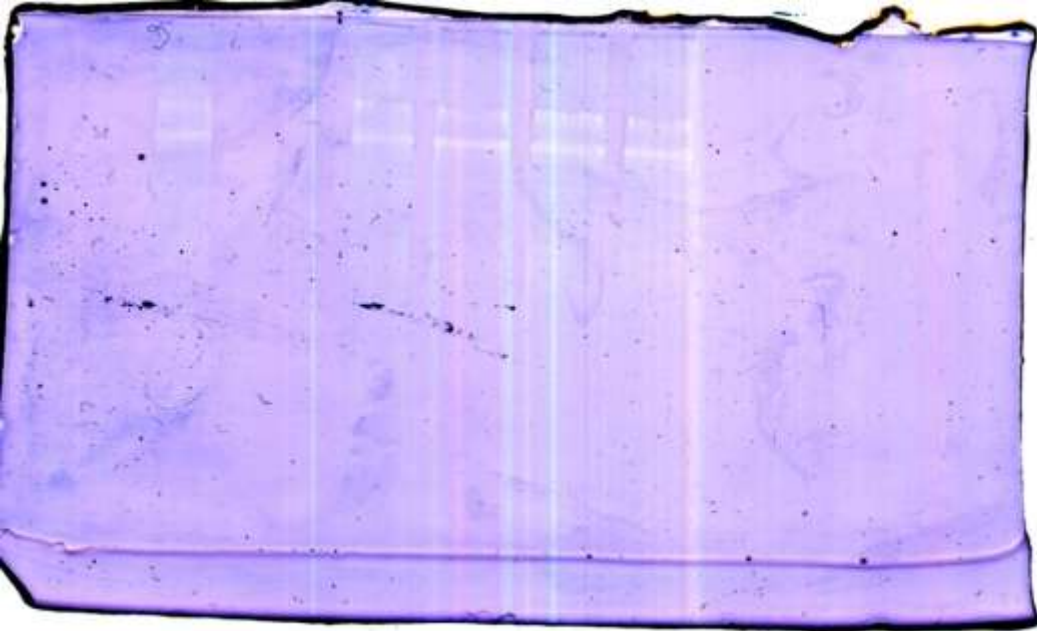


Рисунок 4
Изоферментный
спектр СОД
мутантных растений
арабидопсиса *etr 1-1*
до и после
промораживания в
динамике
закаливания
(незакаленные, $_$, 1,
3, 4, 5 сутки)



Рисунок 5

Спектр
каталазы
мутантов
арабидопсиса
(ein 2-1, etr 1-
1) до и после 5
суток
закаливания

Выводы

- Этилен действительно негативно влияет на холодостойкость и способность к закаливанию растений. Предположительно, сигнальный каскад этилена отвечает за временное подавление активности некоторых изоформ.
- Уровень экспрессии разных изоформ каталазы и СОД и их активность в мутантах *etr 1-1* и *ein 2-1* и в диком типе существенно отличается в закаленных и незакаленных растениях у каждого мутанта соответственно.
- Полное выключение обоих каскадов у мутанта *ein 2-1* позволяет каталазе накапливаться в процессе закаливания.
- В процессе закаливания присутствие и активность различных изоформ меняется, что означает активацию или, наоборот, выключение соответствующих генов в процессе стрессового ответа.

Использованная литература

- - Yukio Kawamura and Matsuo Uemura, 2014 - Plant low-temperature tolerance and its cellular mechanism
- - Mahajan S., Tuteja N. 2005 - Cold, salinity and drought stresses: an overview,
- - Уилкинсон Дж., Изоферменты, пер. с англ., М., 1968; Редькин П. С
- - Shi et al. 2012 - Ethylene Signaling Negatively Regulates Freezing Tolerance by Repressing Expression of CBF and Type-A ARR Genes in Arabidopsis
- - Трунова Т. И., 2007, - Растение и низкотемпературный стресс
- - Н. А Гаевский, Т. И. Голованова, В. М. Гольд - Избранные главы экологической физиологии растений, гл.2
- - В. Д. Креславский и др. – 2012 - Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений
- - Steponkus 1984 - P.L. Role of the plasma membrane in freezing injury and cold acclimation
- - Foyer C. H, Noctor G. 2005 – Oxidant and antioxidant signaling in plants: a reevaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context.
- - Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V 2003. - Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress
- - Бараненко В.В. 2006. - Супероксиддисмутаза в клетках растений.
- - Полесская О.Г. 2007 - Растительная клетка и активные формы кислорода
- - И.И. Туманов, 1979 – Физиология закаливания и зимостойкости растений
- - Jithesh M.N., et al, 2006 – Antioxidative response mechanisms in halophytes: their role in stress defense.
- - Franks F. . 1985 - Biophysics and biochemistry at low temperatures.



Спасибо за внимание!

