

Подпрятова Ю.С., Шерстюк Д.Д.
студенти,
Харківський національний університет
імені В.Н. Каразіна

ВПЛИВ ПЕРЕДПОСІВНОЇ ОБРОБКИ ЗЕРЕН ГОРОХУ НА БІОХІМІЧНИЙ СКЛАД 1-3-ДОБОВИХ КОРЕНЕВИХ ЕКЗОМЕТАБОЛІТІВ

Розвиток «кореневих технологій», в основі яких лежить використання речовин, які екскретує корень, в різних галузях біотехнології. Склад і якість кореневих екзometаболітів залежить від багатьох чинників. Наприклад, мікроорганізми, що знаходяться на поверхні зернівки можуть впливати на проростання насіння, швидкість росту кореня і на склад кореневих екзometаболітів. Використання передпосівної обробки насіння дозволяє нейтралізувати мікроорганізми, що знаходяться на поверхні зернівки. При цьому передпосівна обробка насіння може впливати не лише на мікробіту кореневих екзometаболітів, що отримують, та на склад кореневих екзometаболітів, але і на екскреторну активність кореня. Метою цієї роботи було вивчення впливу різної передпосівної обробки насіння гороху на склад кореневих екзometаболітів проростків гороху з 1 по 3 доби росту.

Для цього насіння гороху обробляли трьома способами: контрольний варіант (К) – проточна вода; 1 спосіб – 0,05% розчин KMnO_4 ; 2 спосіб – 30 секунд в 70% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, 30 хвилин в 5% NaOCl ; 3 спосіб – 5 хвилин в 70% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, 40 хвилин в 5% NaOCl . Через 24 години після замочування зернівки з кожного варіанту обробки розкладали по чашках Петрі і залишали у флорі для проростання.

Передпосівна обробка зерен застосовується з метою відновлення насіння після тривалого зберігання і забезпечення отримання розчинів кореневих екзometаболітів, які виділяються прикордонними клітинами коренів у процесах екскреції.

На 1-, 2- і 3-ю добу росту визначали кількість непророслих зерен, довжину кореня проростків, зміст загальних білків, вільних амінокислот і загальних вуглеводів.

Було виявлено, що передпосівна обробка насіння не впливала на кількість непророслих зернівок і довжину кореня гороху з 1 по 3 доби зростання в контрольному варіанті, при 1-му і 2-му способах передпосівної обробки. При 3-му способі передпосівної обробки кількість непророслих зернівок була більше, а довжина кореня була в 2 рази вище в порівнянні з іншими варіантами обробки з 1 по 3 доби зростання. Таким чином, передпосівна обробка насіння 70% спиртом (5 хвилин) і 5 % гіпохлоритом натрію (40 хвилин) приводила до стимуляції інтенсивності росту кореня на тлі інгібування схожості насіння.

При вивченні складу кореневих екзometаболітів (КЕМ) гороху було виявлено, що передпосівна обробка насіння впливала на вміст і на динаміку екскреції загальних білків, вільних амінокислот і загальних вуглеводів у водних КЕМ гороху з 1 по 3 доби зросту.

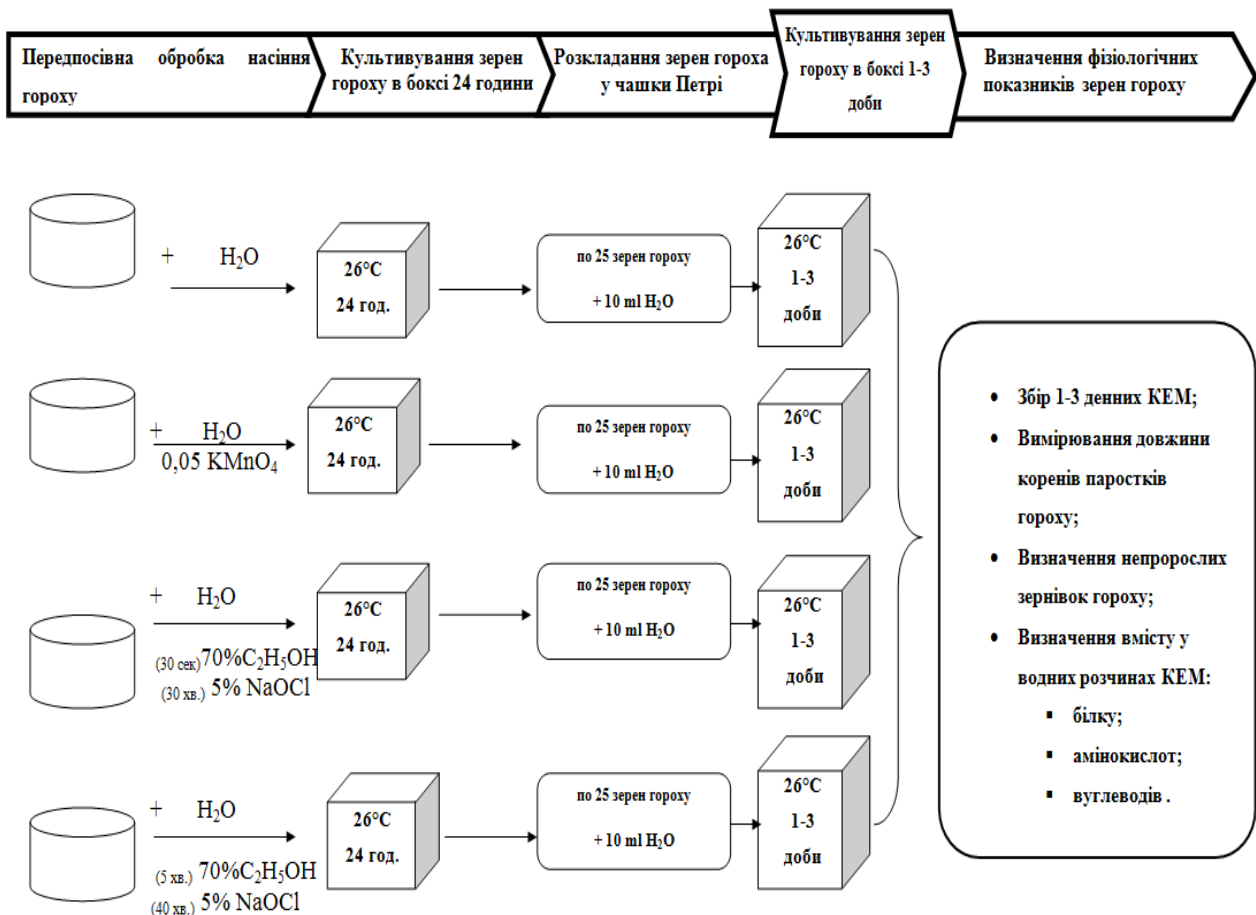


Рис. 1. Схема проведення експерименту

Джерело: розробка авторами під час проведення експерименту

Вміст загальних білків при всіх способах обробки був однаковим з 1 по 2 доби росту, а на 3 добу росту він збільшувався і залежав від передпосівної обробки. Так, найбільший вміст білків був в КЕМ після 3-го способу передпосівної обробки.

Вміст вільних амінокислот у водних КЕМ варіював з 1 по 3 доби росту при всіх способах обробки насіння. Але на 3 добу росту вміст амінокислот в контрольному, при 1-му і 2-му способах був однаковим і складав 465 мкг/100 зерен. При 3-му варіанті обробки на 3 добу росту вміст амінокислот був на 20% більше, ніж в інших варіантах.

Вміст загальних вуглеводів у водних КЕМ збільшувався з 1 по 3 добу росту при всіх способах передпосівної обробки. Найбільша кількість вуглеводів на 3 добу росту була виявлена після 3-го способу обробки насіння.

Таким чином, 1-3-добові проростки гороху у водній культурі мали виражену екскреторну активність, але на кількість речовин, що екскретуються в середовище, і склад компонентів впливала передпосівна обробка насіння.

Отже, обробка насіння різними способами впливає на проростання насіння, довжину кореня це дозволяє відновлювати зерна після тривалого зберігання, а також дозволяє отримувати водні КЕМ гороху різного якісного та кількісного складу. Розчини КЕМ гороху можна використовувати у різних галузях

біотехнології. Так, обробка насіння 5 хвилин в 70% C_2H_5OH і 40 хвилин в 5% $NaOCl$ призводить до стимуляції росту кореня і збільшенню екскреції загальних білків, амінокислот і вуглеводів.

Сорока Д.С.

студентка,

Науковий керівник: Соколова І.Є.

кандидат біологічних наук, доцент,

Дніпровський національний університет

імені Олеса Гончара

ТЕХНОЛОГІЯ CRISPR/CAS9. ЇЇ ДОСЯГНЕННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ

У зв'язку з інтенсивним розвитком молекулярної біології та генної інженерії, людство навчилося проводити різні маніпуляції з генами. Більшість з них дорогі у використанні, неточні і трудомісткі. З цієї причини був розроблений новий метод редагування генома CRISPR/Cas9, як більш точний, економічний і швидкий спосіб редагування генів. Він надав можливість ученим з високою точністю редагувати, нокаутувати і вирізати цілі гени та окремі їх ділянки, наприклад, що несуть злоякісні мутації, а також замінювати гени на ті, які необхідні для виробничої та наукової діяльності людини.

Метою роботи був аналіз літератури щодо досягнень і перспектив використання технології CRISPR/Cas9.

Технологія CRISPR виникла в рамках проекту фундаментальних досліджень, метою яких було з'ясування того, як бактерії борються з вірусними інфекціями. Бактеріям доводиться стикатися з вірусами в середовищі свого проживання. У бактерії є всього кілька хвилин, щоб знешкодити вірус до того, як бактерія буде зруйнована. Таким чином, у клітинах багатьох бактерій існує адаптивна імунна система – CRISPR, що дозволяє виявляти і руйнувати вірусну ДНК [4, с. 167]. Крім того, даний механізм, діє ще й як обмежувач горизонтального переносу генетичної інформації між різними клітинами бактерій. Також відзначено, що система CRISPR може брати активну участь у регуляції роботи «своїх» бактеріальних генів, а також послідовностей профагів і транспозонів всередині генома. Не виключено, що система CRISPR пригнічує у бактерій вироблення деяких антигенів, що допомагає послабити імунну відповідь з боку господаря.

CRISPR (від англ. *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) являє собою кластер регулярних коротких паліндромних повторів, розділених спейсерами – ділянками варіабельних послідовностей. Розмір CRISPR-повтору складає 23-47 пар основ, а спейсерів – від 21 до 72 пар. Число груп «повтор/спейсер» може досягати 375, але зазвичай менше 50 [4, с. 167]. Спейсери, очевидно, представляють собою сегменти захоплених вірусних і плазмідних послідовностей і мають високу швидкість еволюції для cas-генів