

Воздействие наночастиц меди на протеомный статус душицы обыкновенной

Ковзунова О. В.¹, Решетников В. Н.¹, Азизбекян С. Г.²

¹ Государственное научное учреждение «Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси», г. Минск, РБ, olga-kopa@mail.ru

² Государственное научное учреждение «Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси» г. Минск, РБ.

Резюме. Используя метод протеомного анализа определены белковые маркеры повышенного синтеза биологически активных веществ душицы обыкновенной, экспрессируемые в ответ на внекорневую обработку листьев препаратом наночастиц меди в различных концентрациях.

The effect of copper nanoparticles on the proteomic status of perennial pot. Kovzunova O. V., Reshetnikov V. N., Azizbekyan S. G. **Summary.** Using the method of proteomic analysis, protein markers of enhanced synthesis of the active ingredients of the common grapefruit are determined, expressed in response to foliar treatment of leaves with a preparation of copper nanoparticles in various concentrations.

Вторичные метаболиты растений представляют собой богатейший источник полезных для человека веществ, прежде всего медицинского назначения: антибактериальных, антифунгальных, противовирусных, противоопухолевых и т. д. Однако получить низкомолекулярные биорегуляторы в промышленных масштабах не всегда возможно из-за их низкого содержания и сложности выделения из природных объектов, а также вследствие ограниченных запасов самих растений. В Беларуси заготовка дикорастущих лекарственных растений осложнена тем, что значительная часть территории закрыта для сбора сырья вследствие радиоактивного загрязнения. К тому же ряд лекарственных растений, содержащих уникальные биологически активные вещества (БАВ), не произрастают в нашем климате. За рубежом в последнее десятилетие традиционные солевые и хелатные формы микроудобрений вытесняются препаратами нового поколения на основе наночастиц микроэлементов (VI технологический уклад). Основное их преимущество — высокий эффект при существенно меньших удельных расходах за счет быстрого проникновения в клетку и создания эффекта «депо» микроэлементов.

Микроэлементы принимают активное участие во многих жизненно важных процессах, происходящих в растениях на молекулярном уровне. Действуя через ферментативные системы или непосредственно связываясь с биополимерами растений, микроэлементы могут стимулировать или ингибировать процессы роста, развития и репродуктивную функцию растений. В механизмах действия микроэлементов существенной является их способность давать, комплексные соединения с различными органическими веществами, в том числе с белками, активизировать определенные ферментные системы. Однако отмечается, что традиционные формы применения микроэлементов в виде солей и хелатных комплексов имеют ограничения в связи с факторами токсичности и нестабильности растворов (образование осадков) при изменении рН почвы [1].

Душица обыкновенная обладает отхаркивающим, потогонным, седативным, противовоспалительным, антисептическим, спазмолитическим, болеутоляющим, успокаивающим, желче-

гонным и слабым мочегонным действием. В химический состав душицы входят флавоноиды, горечи, дубильные вещества, фитонциды, эфирное масло, в котором присутствуют фенолы — карвакрол и тимол, обладающие сильным противомикробным свойством, а также витамины С (особенно в листьях), В1, и В2 [2,3].

Для направленного регулирования биосинтеза БАВ необходимо знать в деталях не только метабомику целого лекарственного растения, но и определяющие данную метабомику протеомику. Сегодня применение новейших современных подходов к исследованию протеома и метаболома лекарственных растений позволяет углубить фундаментальные знания о биосинтетических циклах и механизмах, ответственных за продукцию БАВ в растениях.

Используя метод ТХУ-ацетоновой преципитации [4], нами были выделены общие пулы белков из листьев душицы обыкновенной, обработанной раствором наночастиц элементов меди в трех исследуемых концентрациях: 1) $15,75 \times 10^{-6}\%$; 2) $31,5 \times 10^{-6}\%$; 3) $63 \times 10^{-6}\%$.

Методом 1 D-электрофореза были получены протеомные карты душицы обыкновенной при воздействии препарата наночастиц меди и проведен их сравнительный анализ (рис. 1). Обнаружены зоны (табл. 1), в которых присутствуют дифференциально экспрессируемые белки, претендующие на роль белков-маркеров функционального состояния душицы обыкновенной при внекорневой обработке препаратом наночастиц меди.

Были выявлены белки с молекулярной массой от 102,5 до 9,9 KDa. Экспрессия белков с одинаковой молекулярной массой у разных видов значительно отличалась.

Протеомный анализ общего пула клеточных белков душицы лекарственной при воздействии препарата наночастиц меди выявил белки-маркеры, не характерных для растений, культивируемых без обработки наночастицами меди.

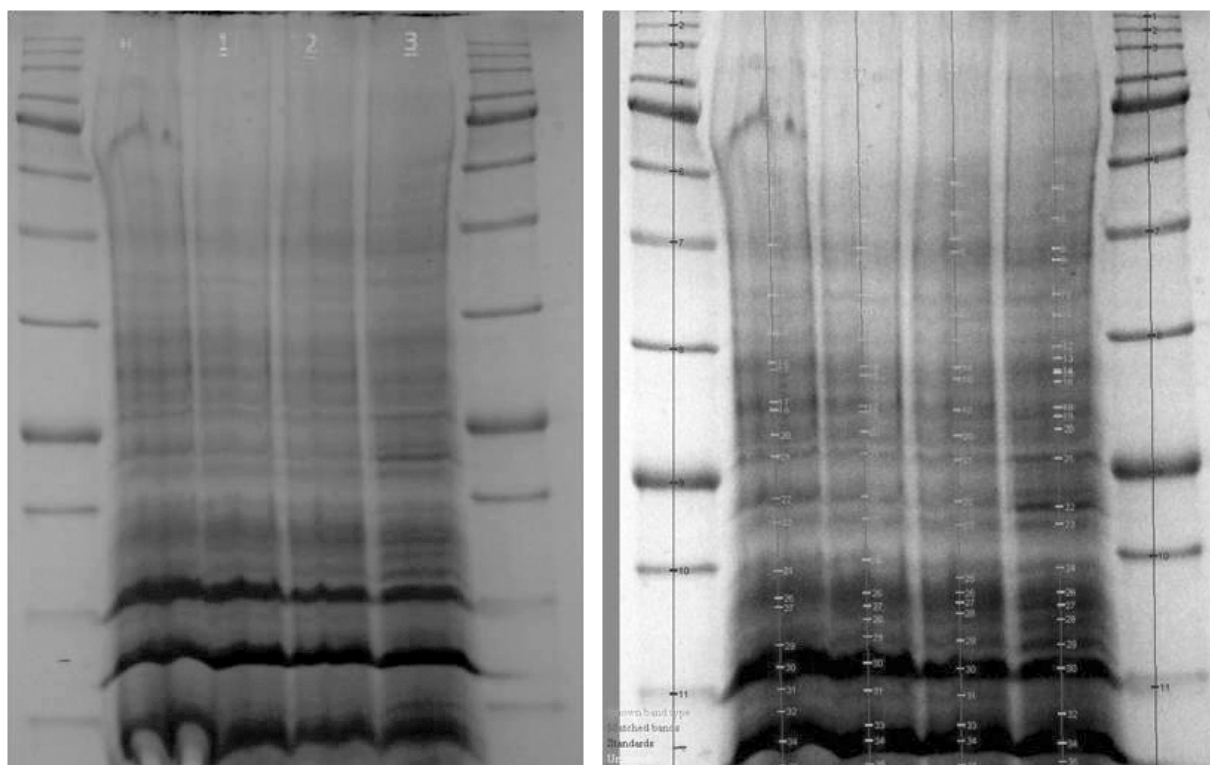


Рис. 1. 1-D-электрофореграмма общего пула клеточных белков душицы обыкновенной: К — контроль; 1 — концентрация препарата наночастиц меди $64 \times 10^{-6}\%$; 2 — концентрация препарата наночастиц меди $32 \times 10^{-6}\%$; 3 — концентрация препарата наночастиц меди $16 \times 10^{-6}\%$; (а — необработанный; б — обработанный с помощью программы Quantity One)

Таблица 1

Разделение общего пула клеточных белков душицы обыкновенной по молекулярным массам при воздействии модификатора метаболизма при 1-D-электрофорезе

Молекулярная масса, KDa	Концентрация препарата наночастиц меди			
	Контроль	$64 \times 10^{-6}\%$	$32 \times 10^{-6}\%$	$16 \times 10^{-6}\%$
102,5	+	+	+	+
72,1	-	+	-	-
62,8	+	+	+	+
56,7	+	+	+	+
53,2	-	+	-	-
50,6	+	+	+	+
46,8	-	+	+	+
45,6	+	+	+	+
44,1	+	+	+	+
39,7	+	+	+	+
37,3	+	+	+	+
34,1	+	+	+	+
32,1	+	+	+	+
31,9	+	+	+	+
31,2	+	+	+	+
31,1	+	+	+	+
30,0	-	+	+	-
29,3	+	+	+	+
28,7	+	+	+	+
27,8	+	+	+	+
25,78	+	+	+	+
22,7	+	+	+	+
21,7	+	+	+	+
19,7	+	+	+	+
19,4	-	-	+	-
19,1	+	+	+	+
18,8	+	+	+	+
18,4	+	+	+	+
17,9	+	+	+	+
17,3	+	+	+	+
16,4	-	+	+	+
15,2	+	+	+	+
14,6	-	-	+	+
13,7	+	+	+	+
12,8	+	+	+	+
12,1	+	+	+	+
11,6	+	+	+	+
11,0	+	+	+	+
10,4	-	+	-	-
9,9	+	+	+	+

Примечание: жирным выделены белки, возможно, отвечающие за повышенный синтез вторичных метаболитов.

Были обнаружены 8 белков, экспрессируемые в ответ на внесение препарата наночастиц меди, возможно, отвечающих за повышенный синтез вторичных метаболитов.

Для душицы обыкновенной было выявлено восемь белков, не экспрессируемые в контроле (растения без обработки наночастицами меди). Белки с молекулярной массой 30,0; 16,4; 46,8; 14,6 можно расценивать как белки-маркеры душицы обыкновенной, появляющиеся при воздействии модификатора метаболизма.

Белки с молекулярной массой 72,1; 53,2; и 10,4 характерны лишь при обработке растений препаратом наночастиц меди с концентрацией $64 \times 10^{-6}\%$, а при концентрации наночастиц $32 \times 10^{-6}\%$ — маркерными белками можно считать белки с Mr 19,4 KDa.

В результате проведенных нами исследований можно сделать заключение о том, что внекорневая обработка лекарственного растения душицы обыкновенной препаратом наночастиц меди, приводит к изменениям в протеоме растений. Белки с молекулярными массами 72,1; 53,2; 30,0; 16,4; 46,8; 19,4; 14,6; 10,4 можно расценивать как белки-маркеры, экспрессируемые в ответ на обработку препаратом наночастиц меди, и возможно, отвечают за повышенный синтез вторичных метаболитов в листьях душицы обыкновенной.

Список литературы

1. Домаш В. И., Шарпио Т. П., Забрейко С. Д., Иванов О. А., Азизбеян С. Г., Набиуллин А. Р. Биопрепараты для повышения продуктивности и устойчивости растений к стрессам. Органическое сельское хозяйство Беларуси: перспективы развития. Материалы Международной научно-практической конференции, Минск, 2012, С. 29–32.
2. Карпук В. В. Фармакогнозия: учебное пособие. Минск: БГУ, 2011, С. 150–151
3. Путырский И. Н., Прохоров В. Н. Универсальная энциклопедия лекарственных растений. Мн.: книжный дом; М. Махаон, 2000, С. 128–130.
4. Verpoorte, R. Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. *Phytochem. Rev*, 2002, Vol. 1, P. 13–25.