

Метод количественной оценки ИУК по гистохимическому окрашиванию GUS-активности¹

Пожванов Григорий Александрович

студент

Санкт-Петербургский государственный университет, биолого-почвенный факультет,

Санкт-Петербург, Россия

E-mail: pozhvanov@gmail.com

При изучении механизма действия фитогормонов, например ИУК, в ходе ростовых реакций растений возникает необходимость оценки локальных концентраций гормона в ткани. В современных исследованиях биологии растений широко распространены методы работы на объектах, трансформированных генетической конструкцией с использованием репортерного гена. Такие конструкции могут быть чувствительны к фитогормонам (ИУК, ЦК и др.), а в качестве репортерного гена используется бактериальная глюкоксидаза. Для визуализации экспрессии GUS проводится гистохимическая реакция, дающая характерное синее окрашивание, но до сих пор доступно только качественное определение присутствия гормона.

Целью данной работы была разработка метода количественной оценки ИУК по гистохимическому окрашиванию на GUS-активность. Объектом исследования являлись 7-дневные проростки *Arabidopsis thaliana* L. DR5::GUS. Растения выращивали на агаризованных средах с различной концентрацией ИУК от 10^{-8} до 10^{-5} М.

Гистохимическое окрашивание корней растений производили реактивом X-Glc (5-Bromo-4-chloro-3-indolyl β -D-glucopyranoside). Затем выполняли микрофото съемку окрашенных образцов и компьютерный анализ цветовой информации цифровых изображений в программах ImageJ и Adobe Photoshop CS2.

Показано, что отклик по каналам цифрового изображения зависит от концентрации ИУК в среде, отклик в канале R достоверно увеличивается с возрастанием концентрации ИУК в среде. По оценке падения яркости видна логарифмическая зависимость от концентрации ИУК в пределах 10^{-7} – 10^{-5} М. Кроме того, падение яркости в канале R достоверно отличается от каналов G и B. Таким образом, анализ цифровых изображений может использоваться для количественной оценки GUS-активности.

Литература

1. Vitha S. Histochemical GUS Analysis / Vitha S., Beneš K., Phillips J.P. and Gartland K.M.A. // *Agrobacterium Protocols*. – Totowa, 1995. – P. 185-193.
2. Зверева С.Д. Репортерные гены для генетической инженерии растений: характеристика и методы тестирования / С.Д. Зверева, Г.А. Романов // *Физиология растений*. – 2000. – Т. 47, № 3. – С. 479-488.
3. <http://www.adobe.com/digitalimag/science.html> // Adobe Photoshop CS2: scientists and health care professionals.

¹ Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 05-04-49619.