

Úloha 5 k zápočtu z přednášky B130P16 **(praktické základy vědecké práce)**

Úkol: Sepište krátký rukopis vědeckého původního článku na téma "**Směřovaný transport auxinu pře plazmatickou membránu hraje úlohu v reakci rostliny na světlo**".

Struktura rukopisu:

Úvodní stránka: Název, autoři, pracoviště - lze si vymýšlet.

Abstrakt: Zdůrazněte ve 2-3 větách hlavní shrnutí výsledků a významu článku

Klíčová slova: Nejdůležitější slova, podle kterých čtenáři budou moci najít náš článek

Úvod: Uvedte čtenáře do problematiky vašeho výzkumu. V krátkosti uvedte co je hormon auxin a proč je důležitý jeho transport. Využijte připojený soubor s obecnými informacemi (info_auxin_pro_ukol5.ppt).

Materiál a metody: Pokuste se uvést uspořádání experimentů z dodaných podkladů, není nutné podrobně, stačí velmi stručně.

Výsledky: Uspořádejte výsledky provedených experimentů dle standardních pravidel, včetně odkazů na obrázky.

Diskuse: V krátkém odstavci rozvedte vaše výsledky a diskutujte jaká je jejich možná interpretace. Navrhněte případně další experimentální postup, jakým by se dalo ověřit dané výsledky.

Poděkování: Zde lze uvést jakoukoliv grantovou podporu či poděkování kolegům.

Seznam literatury: Pokud se Vám podaří v obecném úvodu či v diskusi použít pro účely článku některé z prací uvedených v info_auxin_pro_ukol5.ppt uveďte zde jejich seznam generovaný nejlépe s pomocí online bibliografických zdrojů (Pubmed, WOS, Scopus, EndNoteWeb, Mendley).

Legendy k obrázkům: Stručný popis obrazové dokumentace. Měl by však být samostatně pochopitelný.

Obrazová dokumentace: Vždy jeden obrázek na jedné straně.

Podklady:

Experiment 1:

Dva typy syntetických auxinů 2,4-D a NAA vstupují do buňky přes plazmatickou membránu dvěma různými mechanismy. První mechanismu je aktivní a využívá přenašeč (tzn. za spotřeby energie), druhý mechanismus je pasivní, auxin volně difunduje přes membránu.

Pomocí radioaktivně označených auxinů [³H]2,4-D a [³H]NAA bylo sledováno jejich hromadění uvnitř tabákových buněk v kontrolní variantě a po přidání inhibitoru 1-NOA (kyselina 1-naftoxyoctová) blokující přenašeč do buňky (přidán po jedné minutě).

Buněčná linie tabáku BY-2 byla odebrána po dvou dnech kultivace a převedena do pufru, který zajišťuje stabilní pH. Po 2h ekvilibrace v tomto pufru byl k buňkám přidán radioaktivně značený auxin ([³H]2,4-D či [³H]NAA) a následně během cca 30 min odebírány vzorky suspenze, ve kterých byla následně stanoveno množství radioaktivity. Dostáváme následující výsledky:

Pro látku 2,4-D:

čas (minuty)	číslo vzorku	[³ H]2,4-D (dpm)	[³ H]2,4-D plus 1-NOA (dpm)
0	1	4063	
	2	4635	
	3	5008	
	4	5309	
3	5	13830	29 9881
	6	14303	30 10046
	7	12719	31 9792
	8	14703	32 9715
5	9	16039	33 9175
	10	15901	34 9389
	11	15757	35 8727
	12	16555	36 10175
11	13	16112	37 8722
	14	16750	38 8486
	15	16574	39 8787
	16	16799	40 8834
17	17	14524	41 9106
	18	15943	42 10500
	19	16290	43 8674
	20	16694	44 8843
25	21	15952	45 8128
	22	15438	46 8509
	23	15519	47 8444
	24	16738	48 8744
32	25	15688	49 8357
	26	15763	50 8789
	27	15593	51 8281
	28	16029	52 8278

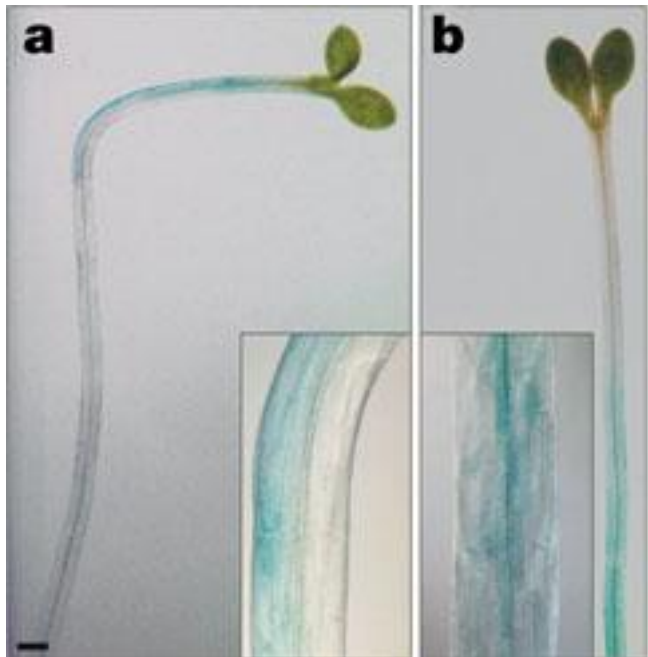
Pro látku NAA:

časy (min)	číslo vzorku	[³ H]NAA (dpm)	[³ H]NAA plus 1-NOA	
0	1	4827		
	2	5363		
	3	5586		
	4	5883		
3	5	7360	29	7591
	6	8076	30	8064
	7	7898	31	8211
	8	8269	32	8348
5	9	7164	33	7904
	10	7446	34	7994
	11	7822	35	8380
	12	7260	36	8461
11	13	8187	37	8304
	14	7279	38	8505
	15	7682	39	8113
	16	7734	40	7987
17	17	7308	41	8040
	18	7432	42	8134
	19	8279	43	8446
	20	7765	44	8168
25	21	7669	45	8192
	22	7516	46	8198
	23	7416	47	8376
	24	7812	48	8588
32	25	7710	49	8316
	26	8581	50	8610
	27	8301	51	8860
	28	8064	52	8931

Vytvořte grafy akumulací radioaktivně značených auxinů a zjistěte, který vstupuje do buňky aktivně a který pasivně. Výsledek ukazuje, že alespoň jeden ze syntetických auxinů vstupuje do buňky prostřednictvím přenašeče a že tento proces v buňkách probíhá.

Experiment 2:

V první části jsme studovali vstup auxinů do buňky na úrovni jednotlivé buňky, v druhé části se budeme věnovat výstupu auxinů z buňky. Zajímá nás, jaký vliv bude mít zablokování přenašeče transportu látky, která je fyziologicky velmi důležitá pro rostliny a má vliv na řadu rostlinných procesů.



Na obrázku vidíme výsledek našeho hypotetického experimentu - inhibitor, o kterém víme že dokáže zablokovat transport auxinu ven z buňky NPA (kyselina 1-N-naftylftalamová) způsobil chybnou reakci stonku semenáčků *Arabidopsis thaliana* na osvětlení z pravé strany. Za normálních podmínek **(a)** se stonek ohýbá za světlem. V případě aplikace inhibitoru NPA **(b)** se stonek neohýbá. Současně tento experiment zobrazuje, kde je auxin distribuován v rostlině. Modrá barva indikuje místa, kde dochází ke genové expresi indukované auxinem. Ta je zvýšena na zastíněné straně, která se také více prodlužuje. Po aplikaci NPA nedojde k vytvoření gradientu. Klademe si otázku, co toto může znamenat (uvažujte o prodloužení buněk na dvou stranách). Pozn: Rostliny byly pro účely tohoto experimentu transformovány genem kódujícím enzym β -glukuronidázu pod promotorem, který je citlivý na hormon auxin. Pouze tam, kde je dostatek auxinu se spustí exprese enzymu. Jeho aktivita poté způsobí vytvoření modré sraženiny pokud přidáme k fixovaným rostlinám chromogenní substrát X-gluc (5-bromo-4-chloro-3-indolyl β - D glucuronide).

Z tohoto experimentu půjde usoudit (alespoň nepřímo) jaká je role aktivního transportu auxinu při ohýbání stonku semenáčku *Arabidopsis thaliana*. Popište experiment svými slovy, můžete si i vymýšlet.