**Úloha 4 k zápočtu z přednášky B130P16  
(praktické základy vědecké práce)**

**Úkol:**

Sepište krátký rukopis vědeckého původního článku na téma **"Směrovaný transport auxinu přes plazmatickou membránu hraje úlohu v reakci rostliny na světlo".**

**Struktura rukopisu:**

**Úvodní stránka:**

Název, autoři, pracoviště - lze si vymýšlet.

**Abstrakt**:

Zdůrazněte v max. 4 větách hlavní shrnutí výsledků a významu článku.

**Klíčová slova**:

Nejdůležitější slova, podle kterých čtenáři budou moci najít náš článek

**Úvod:**

Uveďte čtenáře do problematiky vašeho výzkumu. V krátkosti uveďte co je hormon auxin a proč je důležitý jeho transport. Využijte připojený soubor s obecnými informacemi (info\_auxin\_pro\_ukol4.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 rozveďte 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:**

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

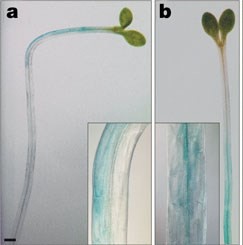
**Pro látku NAA:**

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

**Experiment 2:**

V první části jsme studovali vstup auxinů do buňky na úrovni jednotlivé buňky, cílem druhého experimentu bylo testovat funkci 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 vývojových 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 ß-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 ß – D glucuronide).

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