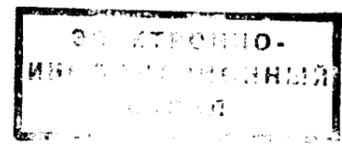


576  
Г85



На правах рукописи

*А/м*

**ГРИНЬЛАТ АНТОН ИОСИФОВИЧ**

**РАЗРАБОТКА БИОИНФОРМАЦИОННОЙ МОДЕЛИ  
АПОПТОЗА И НЕКРОЗА У РАСТЕНИЙ**

03.00.23 – Биотехнология

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата сельскохозяйственных наук

Орел - 2007



биот  
унив

регионального центра  
рственный аграрный

Григорьев А.И.

Биоинформатика  
ль Ефимовна

Некроз  
2 и нек  
ких наук, профессор  
др Абдуллаевич;

Иосифович  
зьяйственных наук,  
Иосифович

ийский научно-  
институт  
пленных культур

асов на заседании  
У ВПО «Орловский  
у: 302019, г. Орел,

иотеке Орловского

мреля 2007г.

Т.Ф. Макеева  
Макеева Т.Ф.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** До изобретения компьютеров изучение биологических явлений основывалось на экспериментах in vivo и in vitro. С появлением и развитием ЭВМ, компьютерный анализ превратился в самостоятельную область науки – биоинформатику. Исследования in silico, то есть в компьютере, уже привели ко многим важным достижениям биоинформатики.

Представляемая работа посвящена разработке биоинформационной системы на базе результатов собственного эксперимента, связанного с различными формами клеточной гибели в растениях, такими как некроз и апоптоз.

У растений относительно давно доказано существование запрограммированной гибели клеток (ЗГК), в том числе и апоптоза. Однако изучение ЗГК растений до сих пор слабо развито из-за малого удельного веса биохимии растений в естественных науках и сильного перевеса активности исследований в области ЗГК животных и человека. Изучение апоптоза у растений – относительно новая и потому еще слабо наполненная данными область науки. До недавнего времени существование запрограммированной гибели клеток часто не только игнорировали, но иногда и вовсе не признавали, подобно тому, как существование биологических часов и генов смерти вообще считались абсурдным и это также является причиной неполноты данных в области ЗГК вообще и апоптоза у растений в частности. Исследование механизмов старения и гибели клетки открывает возможность управления временем жизни и создания препаратов-фитоиммуномодуляторов направленного действия.

**Цель и задачи исследований.** Цель работы – разработать биоинформационную модель апоптоза и некроза растений на примере пшеницы и гороха.

Задачи:

1. Исследовать антиоксидантную систему пшеницы и гороха в норме, при апоптозе и при некрозе.
2. Исследовать влияние апоптоза и некроза на фрагментацию ДНК методом ПЦР-анализа.
3. Установить влияние биотических факторов на проявления апоптоза и некроза у пшеницы и гороха.
4. Установить влияние абиотических факторов на проявления апоптоза и некроза у пшеницы и гороха.
5. Установить влияние апоптоза и некроза на состав белков пшеницы и гороха.

6. На основе полученных данных идентифицировать тип клеточной гибели в опадающих плодозементах люпина.
7. Разработать компьютерный программный комплекс для администрирования и обработки собственных экспериментальных данных.
8. Создать биоинформационную модель апоптоза и некроза пшеницы и гороха.

**Научная новизна работы.** Впервые на примере растений проведен достаточно широкоспектральный динамический биохимический анализ процессов естественного и индуцированного апоптоза и некроза, вызванного как биотическими, так и абиотическими факторами. Впервые на основе корреляционного и дифференциального анализа построена биоинформационная модель апоптоза и некроза растений.

**Практическая значимость работы.** Изучение механизмов запрограммированной и спонтанной гибели клеток растения и базированная на полученных данных разработка средств управления обеими формами гибели клеток растения имеют крайне важное значение как для фундаментальной, так и для прикладной биотехнологии. Контроль над некрозом и апоптозом позволит повышать устойчивость растений к патогенам, увеличивать урожайность сельскохозяйственных культур, бороться с сорной растительностью, ускорять или увеличивать синхронность созревания урожая, обеспечит возможность управлять длительностью вегетационного периода и упростит работу селекционеров.

**Апробация работы.** Материалы диссертации были доложены на научно-методической конференции “Физиологические аспекты продуктивности растений”, Орел 2004; на 2 съезде Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова, Москва, 2004, на 4 съезде Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова, Пущино, 2006 и на конференции, посвященной 40-летию отдела биохимии и молекулярной биологии ВИР им. Н.И. Вавилова, С.-Петербург, 2007.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 7 работ, в том числе 1 патент на изобретение.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 156 листах компьютерного текста, 88 страницах приложений и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов собственных исследований и их обсуждения, выводов, предложений производству, списка литературы, включающего 58

отечественных и 93 иностранных источников. Работа иллюстрирована 79 таблицами и 146 рисунками.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Диссертационная работа выполнена в период с 2003 по 2006 гг. в рамках программы 04.02.01 РАСХН: “Разработать новые эффективные методы оценки мирового разнообразия культурных растений по признакам качества, устойчивости к неблагоприятным абиотическим факторам среды, болезням и вредителям”.

Экспериментальная работа проводилась на базе Орловского регионального центра биотехнологии ФГОУ ВПО «Орловский государственный аграрный университет».

Материалом исследований являлись образцы пшеницы, гороха и люпина селекции ВНИИ ЗБК. Схема эксперимента представлена на рис. 1 на следующей странице.

Активность супероксиддисмутазы определяли фотохимическим методом (С.N. Giannopolities, S.K. Ries, 1977) на приборе, разработанном автором (патент № 2293969); активность пероксидазы – спектрофотометрическим методом по Бояркину (А.И. Ермаков, 1983); активность каталазы – волюмометрическим методом (А.И. Ермаков, 1983). Все методы анализа активностей ферментов были модифицированы.

Концентрации витамина С и глутатиона определяли методом Петта в модификации Прокошева (Н.Н. Третьяков, 1990).

Для определения концентрации токоферола была использована объединенная спектрофотометрическая методика (ГОСТ 30417-96, 1996 и www.sibpatent.ru, 2006).

Анализ белковых фракций проводили методом SDS-ПААГ электрофореза (А.В. Конарев и др. 2000); анализ ДНК – методом ПЦР в модификации; статистическую обработку результатов проводили методами дисперсионного анализа с использованием компьютерных программ «Excel», «Biotest-D» и собственного программного комплекса соискателя (разд. 9).

Биоинформационная модель была построена с помощью встроенных в «Excel» функций статистической обработки данных.