

ROLA MITOCHONDRIALNEJ OKSYDAZY ALTERNATYWNEJ W ANHYDROBIOZIE NIESPORCZAKÓW



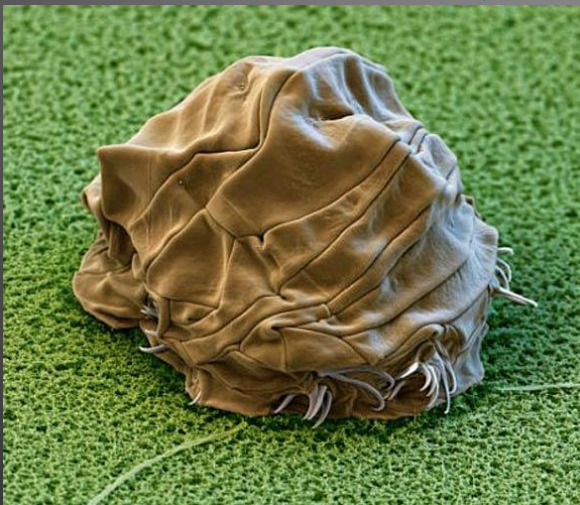
Praca licencjacka pod
kierownictwem
prof. Hanny Kmity

Krótko o niesporczakach

- Wodne zwierzęta bezkręgowce
- Pierwousty
- Długość 0.01 cm do 1.2 cm
- Cztery pary ostro zakończonych odnóży
- Roślinożerne lub mięsożerne
- Odporne na:
 - ✓Wysokie temperatury
 - ✓Niskie temperatury
 - ✓Wysokie ciśnienie
 - ✓Niskie ciśnienie
 - ✓Skrajne wysuszenie środowiska
 - ✓Długotrwały brak pożywienia
 - ✓Promieniowanie kosmiczne
 - ✓Promieniowanie jonizujące
 - ✓.
 - ✓..
 - ✓...
 - ✓Cyjanek???



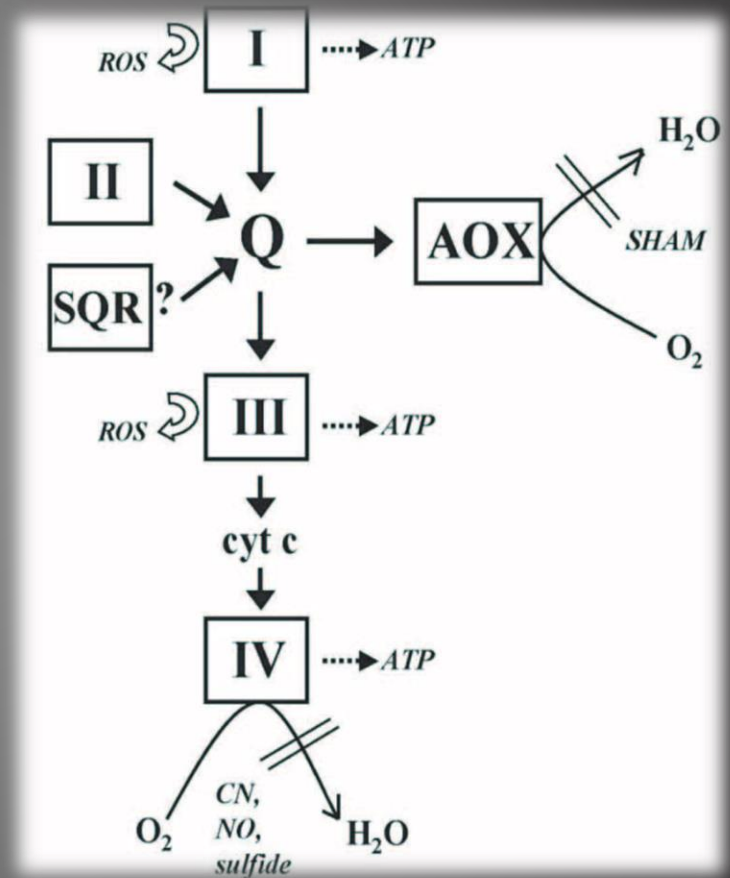
Zdolność do anhydrobiozy jest ich największym atutem



- Specyficzny rodzaj anabiozy wywołany odwodnieniem środowiska
- Umożliwia przetrwanie w ekstremalnych warunkach
- Może trwać rekordowo długo, dziesiątki lat
- Możliwe, że fizjologiczne uwarunkowania wynikają z obecności odpornych na szok termiczny białek cytoprotekcyjnych CAHS i SAHS i alternatywnej oksydazy

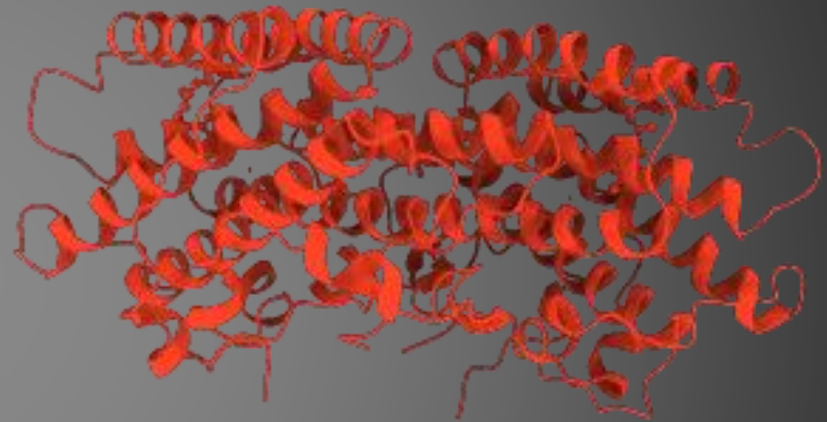
Czym jest AOX?

- Białko wewnętrznej błony mitochondrialnej
- Zapewnia elektronom w mitochondriach transport alternatywną ścieżką podczas łańcucha oddechowego, poprzez przeprowadzenie utleniania ubichinolu i redukcję O_2 do H_2O
- Przenosi elektron na tlen, pomijając kompleks III i kompleks IV



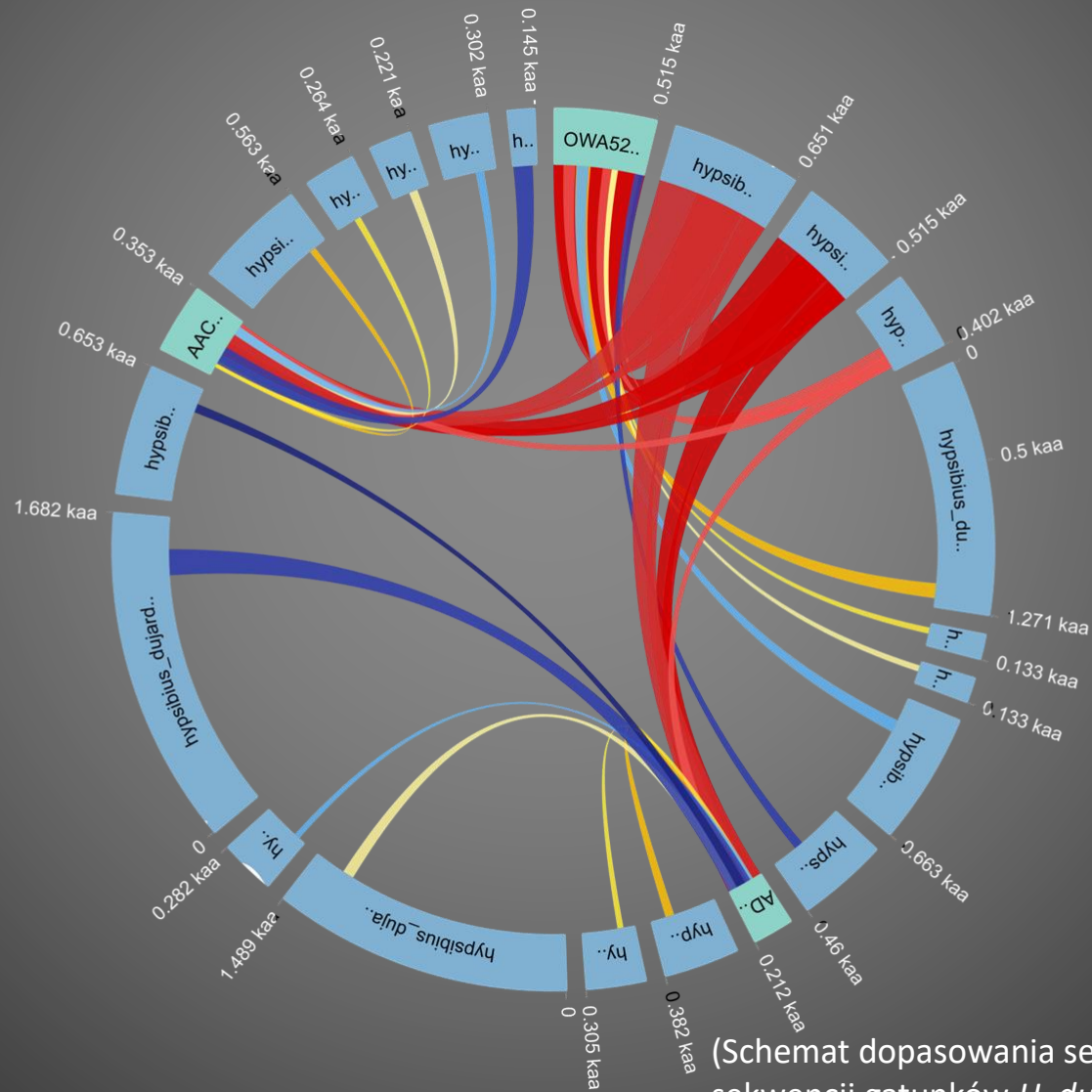
Rola AOX u różnych organizmów

- Umożliwia podnoszenie temperatury tkanek u roślin, co zwiększa intensywność wabienia i w konsekwencji również zapyleń
- Reguluje intensywność siły redukcyjnej (nadmiar NADPH) w tzw. drodze cytochromowej w komórkach roślinnych
- Optymalizuje fotosyntezę
- U niektórych owadów, wydzielana dokrewnie, 'symuluje ich śmierć' w warunkach stresowych
- Jest przystosowaniem do prawie beztlenowego środowiska u bakterii



<http://www.rcsb.org/structure/3VVA>
(struktura białka AOX dla *Trypanosoma brucei*
uzyskana krystalograficznie)

Przesłanki na istnienie AOX u niektórych *Tardigrada*



blast.tardigrades.org

(Schemat dopasowania sekwencji roślinnej AOX do sekwencji gatunków *H. dujardini* i *R. varieornatus*)

Dotychczasowe wyniki eksperymentów

| | Kontrola w wodzie | Kontrola w wodzie + MetOH | 1 mM BHAM | 3 mM BHAM |
|---|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------------|
| Obserwacja zawartości szalek przed zalaniem | 10 w stanie baryłki | 8 w stanie baryłki, 2 martwe | 8 w stanie baryłki, 2 martwe | 9 martwych, 1 zaginiony |
| Obserwacja pierwszego ruchu po zalaniu szalek | Pierwszy ruch po 7 minutach | Pierwszy ruch po 13 minutach | Pierwszy ruch po 50 minutach | Brak jakichkolwiek ruchów |
| Obserwacja po dwóch godzinach | 8 osobników aktywnych | 7 osobników aktywnych | 2 osobniki w rozruchu | Brak jakichkolwiek ruchów |

*Tabela 1. Obserwacje kultury niesporczaków *M. tardigradum* po pierwszej anhydrobiozie z odczynnikiem BHAM działającym bezpośrednio*

Dotychczasowe wyniki eksperymentów

| | Kontrola w wodzie | Kontrola w wodzie + MetOH | 0.1 mM BHAM | 1 mM BHAM |
|--|---|--|---|---|
| Obserwacja zawartości szalek przed zalaniem | 10 osobników w stanie baryłki | 10 osobników w stanie baryłki | 5 w stanie baryłki, 5 w stanie przejściowym | 8 martwych, 2 w stanie przejściowym |
| Obserwacja po godzinie | 8 osobników aktywnych, 1 osobnik w stanie baryłki, 1 osobnik martwy | 7 osobników aktywnych, 3 osobniki w rozruchu | 5 osobników aktywnych, 3 osobniki w rozruchu, 2 osobniki martwe | 1 osobnik w rozruchu, 3 osobniki w stanie baryłki, 6 osobników martwych |
| Obserwacja po dobie | 9 osobników aktywnych, 1 osobnik martwy | 10 osobników aktywnych | 8 osobników aktywnych, 2 osobniki martwe | 1 osobnik aktywny, 3 osobniki w stanie baryłki, 6 osobników martwych |

Tabela 3. Obserwacje kultury niesporczaków *M. tardigradum* po drugiej anhydrobiozie z odczynnikiem BHAM działającym bezpośrednio

Jakie to może mieć znaczenie dla
niesporczaków?



Co zostało do zrobienia?

- Przeprowadzenie eksperymentu polegającego na inkubacji w środowisku z BHAM
- Utworzenie drzewa filogenetycznego w oparciu o ClustalOmega
- Porównanie niesporczakowego AOX z sekwencjami białkowymi AOX u innych zwierząt
- Predykcja struktury przestrzennej AOX u niesporczaków i dopasowanie jej do istniejącej w bazie PDB

