

ЭНДОЦИТОЗ У БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ: ОСОБЕННОСТИ ФИЗИОЛОГИИ И ЦИТОЛОГИИ

СТУДЕНТКА 4-ГО КУРСА:

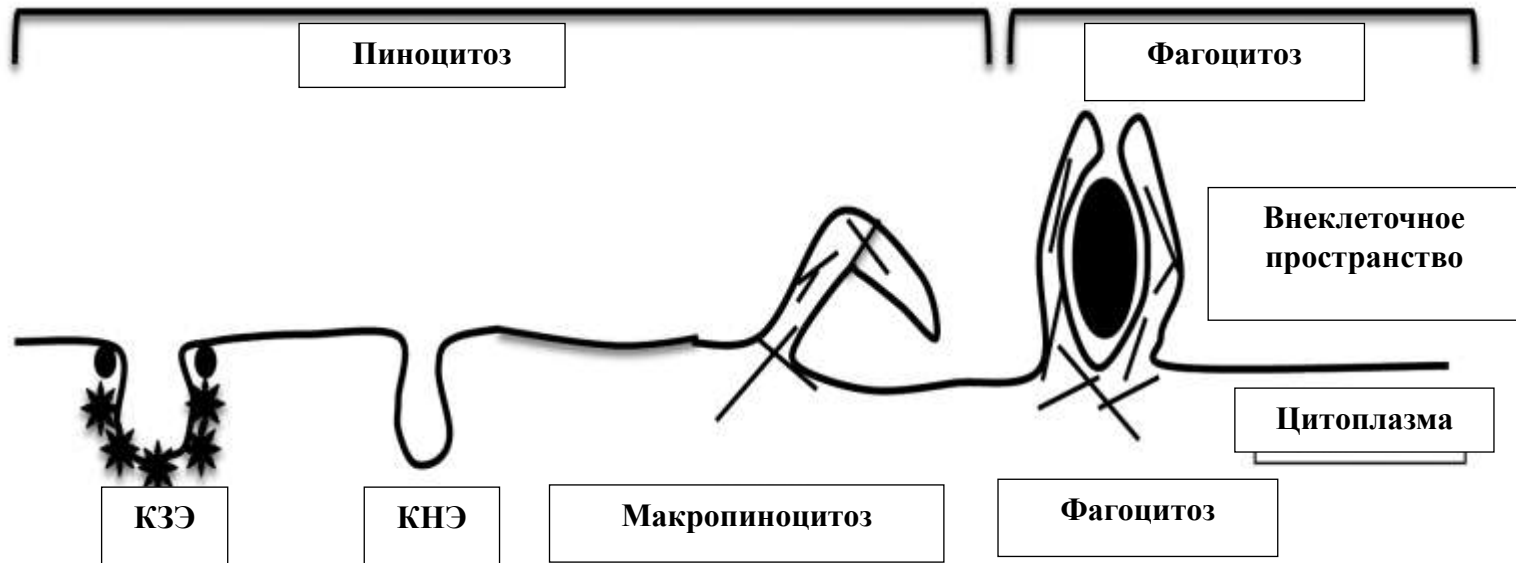
**КИСЕЛИЦА МАРИНА
АЛЕКСЕЕВНА**

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ:

Проф. О.В. КАМЗОЛКИНА

Эндоцитоз – базовый процесс в клетке, при котором клетка «усваивает» различные молекулы. Эндоцитоз представляет собой поглощение клеткой воды, веществ, частиц и микроорганизмов. Эндоцитоз осуществляется путем впячивания плазматической мембраны, формирования и отделения везикул, их транспорта и слияния с мембранными органеллами.

Изучение механизмов эндоцитоза на примере базидиальных грибов является одной из важных и интересных проблем клеточной биологии и фундаментальной микологии.



КЗЭ – клатрин–зависимый эндоцитоз

КНЭ – клатрин–независимый эндоцитоз

Цель работы:

Выявить особенности эндоцитоза у базидиальных грибов, представителей разных эколого-трофических групп

Задачи:

- 1. Создание коллекции базидиальных грибов.**
- 2. Подбор питательных сред для наблюдения эндоцитоза у базидиомицетов.**
- 3. Стандартизация метода выявления эндоцитоза у базидиальных грибов с помощью флуоресцентного маркера эндоцитоза AM4-64.**
- 4. Определение скорости роста базидиальных грибов при разных температурах.**
- 5. Влияние температуры на динамику эндоцитоза у базидиальных грибов.**
- 6. Влияние ингибиторов цитоскелета и эндоцитоза на динамику эндоцитоза.**

Коллекция грибов:

Природные изоляты:

Таксон	Эколого-трофическая группа
<i>Armillaria</i> sp.	ксилотроф-паразит
<i>Chondrostereum purpureum</i>	ксилотроф-сапротроф
<i>Daedaleopsis confragosa</i>	ксилотроф-сапротроф
<i>Fomes fomentarius</i>	ксилотроф-сапротроф
<i>Fomitopsis pinicola</i>	ксилотроф-сапротроф
<i>Oligoporus alni</i>	ксилотроф-сапротроф
<i>Panellus</i> cf. <i>stipticus</i>	ксилотроф-сапротроф
<i>Phallus impudicus</i>	гумусовый сапротроф
<i>Phlebia centrifuga</i>	ксилотроф-сапротроф
<i>Trametes versicolor</i>	ксилотроф-сапротроф

Коллекция кафедры микологии и альгологии:

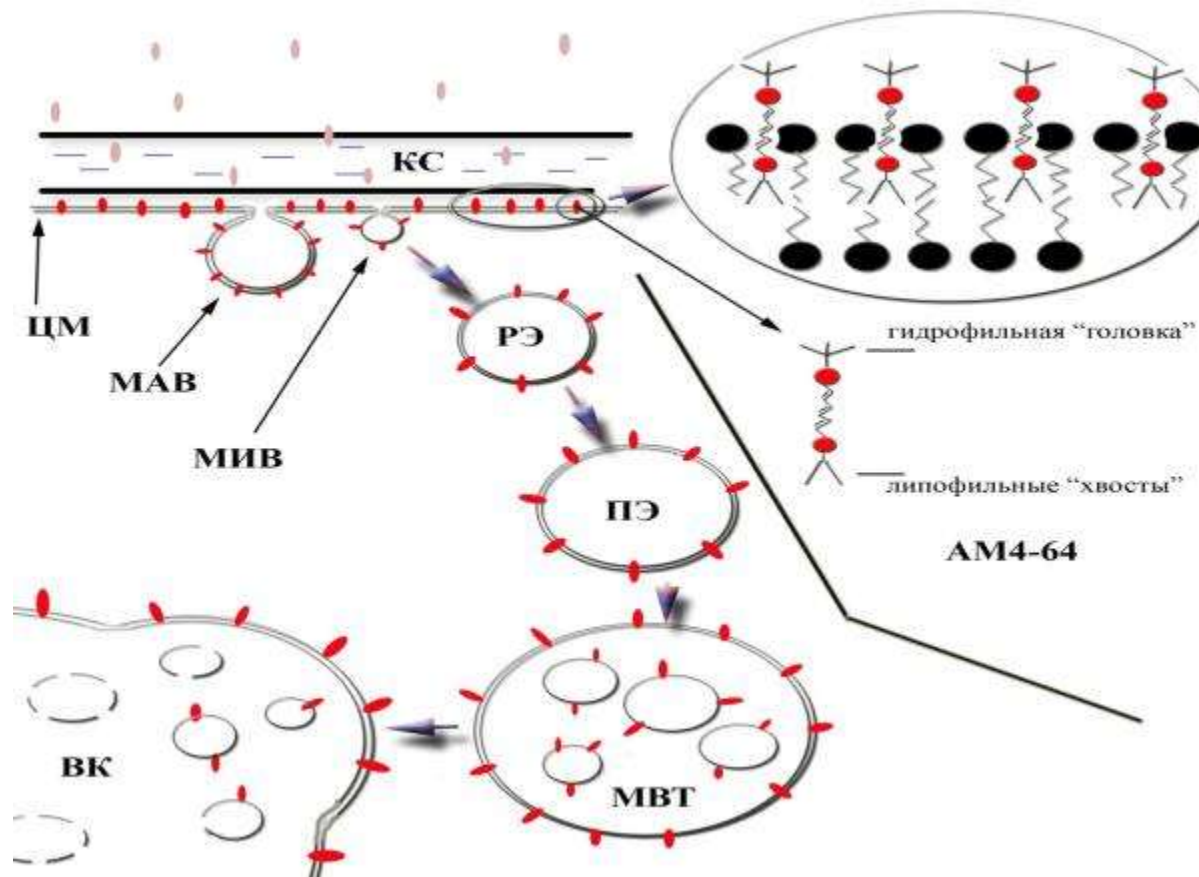
Таксон	Эколого-трофическая группа
<i>Coprinopsis cinerea</i>	гумусовый сапротроф
<i>Pleurotus ostreatus</i>	ксилотроф-сапротроф
<i>Rhizoctonia solani</i>	паразит/симбиотроф

ПОДБОР СРЕД ДЛЯ НАБЛЮДЕНИЯ ЭНДОЦИТОЗА У БАЗИДИОМИЦЕТОВ

Таксон	Эколого-трофическая группа	Среды		Признаки	
		Мальт-агар 2,5°Б	Мальт-агар 1,0°Б	Мальт-агар 0,5°Б	Мальт-агар 0,1°Б
<i>Armillaria sp.</i>	ксилотроф – паразит	Чапек	Чапек	Чапек	Чапек
<i>Chondrostereum purpureum</i>	ксилотроф – сапротроф	Чапек	Чапек	Чапек	Чапек
<i>Coprinopsis cinerea</i>	гумусовый сапротроф	Чапек	Чапек	Чапек	Чапек
<i>Daedaleopsis confragosa</i>	ксилотроф – сапротроф	Чапек	Чапек	Чапек	Чапек
<i>Fomes fomentarius</i>	ксилотроф - сапротроф	Чапек	Чапек	Чапек	Чапек
<i>Fomitopsis pinicola</i>	ксилотроф - сапротроф	Чапек	Чапек	Чапек	Чапек
<i>Oligoporus alni</i>	ксилотроф - сапротроф	Чапек	Чапек	Чапек	Чапек
<i>Panellus cf. stipticus</i>	ксилотроф - сапротроф	Чапек	Чапек	Чапек	Чапек
<i>Phallus impudicus</i>	гумусовый сапротроф	Чапек	Чапек	Чапек	Чапек
<i>Phlebia centrifuga</i>	ксилотроф - сапротроф	Чапек	Чапек	Чапек	Чапек
<i>Pleurotus ostreatus</i>	ксилотроф - сапротроф	Чапек	Чапек	Чапек	Чапек
<i>Rhizoctonia solani</i>	паразит/симбиотроф	Чапек	Чапек	Чапек	Чапек
<i>Trametes versicolor</i>	ксилотроф - сапротроф	Чапек	Чапек	Чапек	Чапек

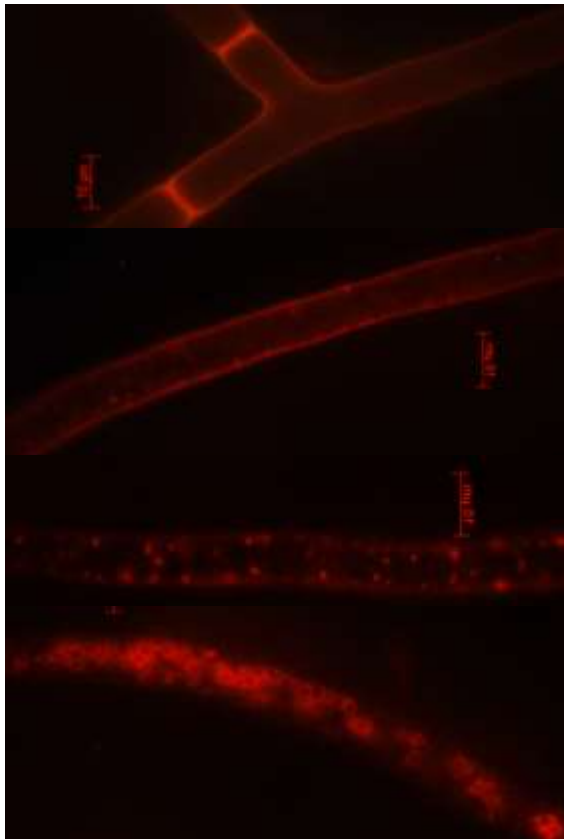
Таксон	Эколого-трофическая группа
<i>Armillaria sp.</i>	ксилотроф-паразит
<i>Coprinopsis cinerea</i>	гумусовый сапротроф
<i>Fomitopsis pinicola</i>	ксилотроф - сапротроф
<i>Pleurotus ostreatus</i>	ксилотроф - сапротроф
<i>Rhizoctonia solani</i>	паразит/симбиотроф

СХЕМА РАБОТЫ И ОРГАНИЗАЦИЯ МАРКЕРА ЭНДОЦИТОЗА АМ4-64



Обозначения на схеме: КС – клеточная стенка, ЦМ – цитоплазматическая мембрана, МВ – макровезикулы, МВ – микровезикулы, РЭ – ранние эндосомы, ПЭ – поздние эндосомы, МВТ – мультивезикулярные тела, ВК – вакуоли.

Метод выявления эндоцитоза у *R.solani* с помощью флуоресцентного маркера эндоцитоза AM4-64



0 стадия



1 стадия



2 стадия

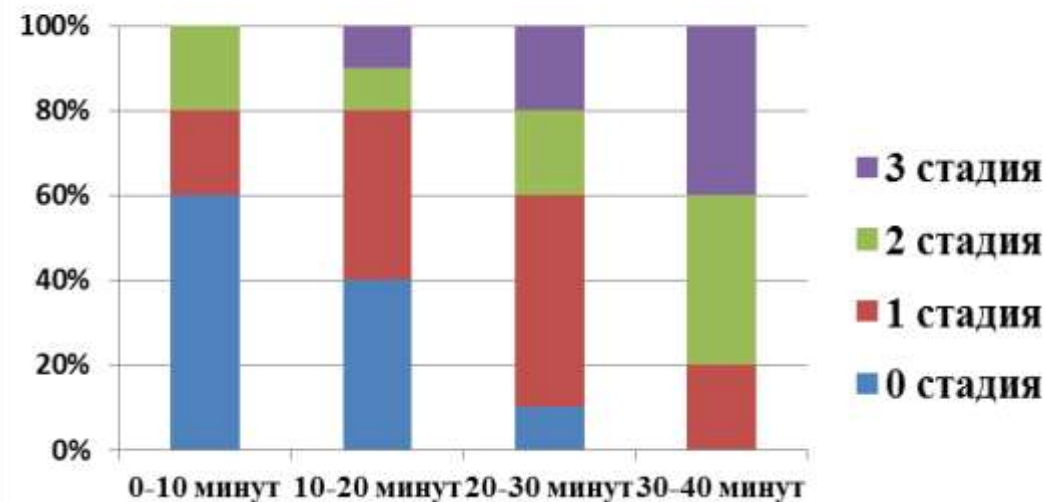


3 стадия

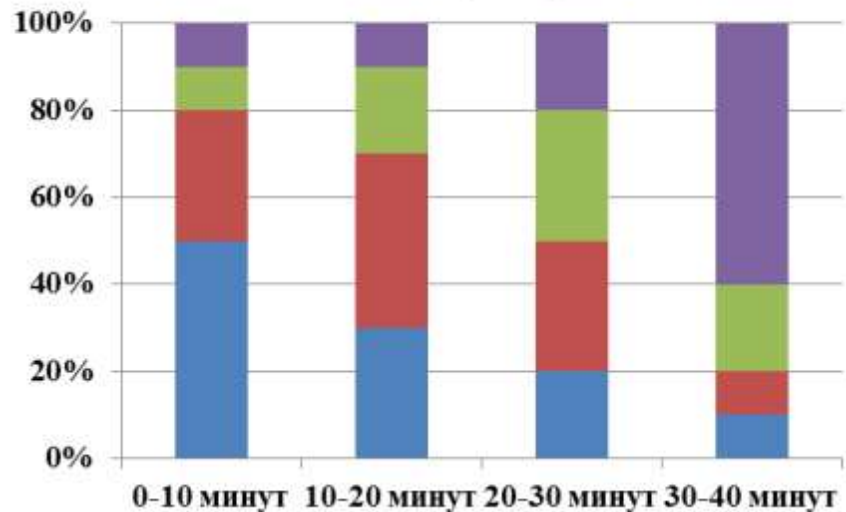


Стандартизация метода наблюдения эндоцитоза при 22°C

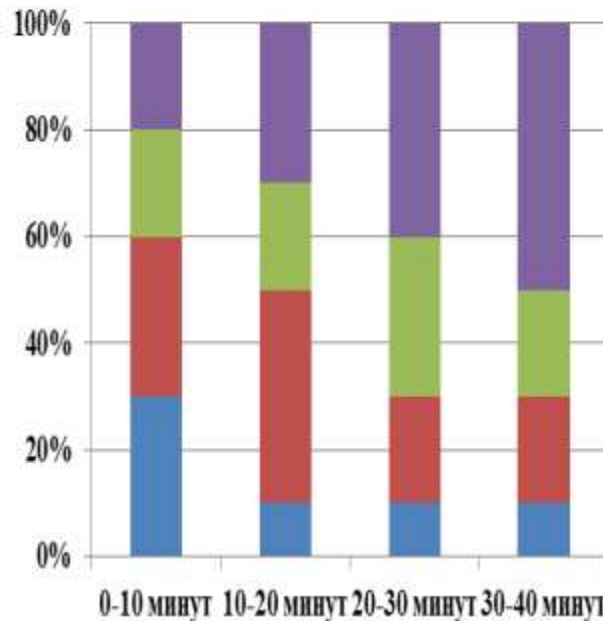
Rhizoctonia solani



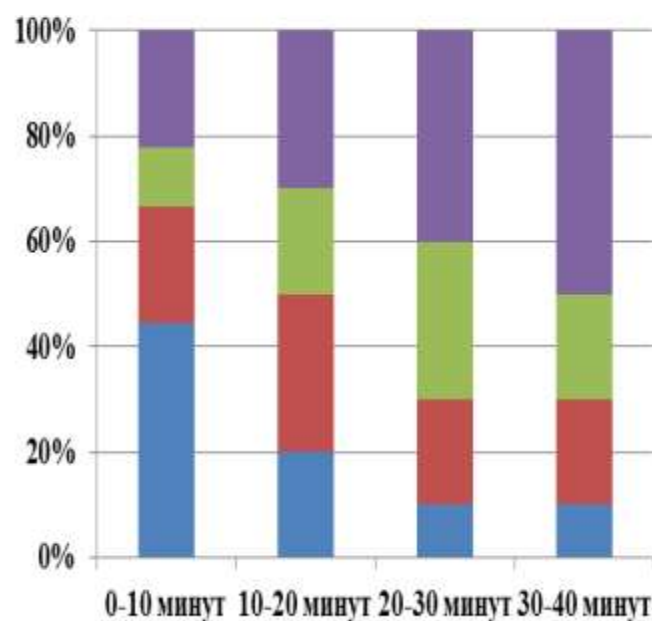
Fomitopsis pinicola



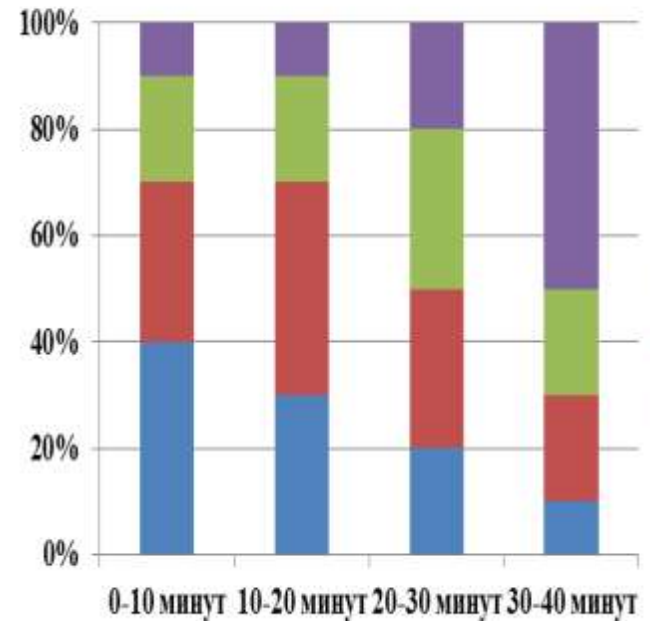
Coprinopsis cinerea



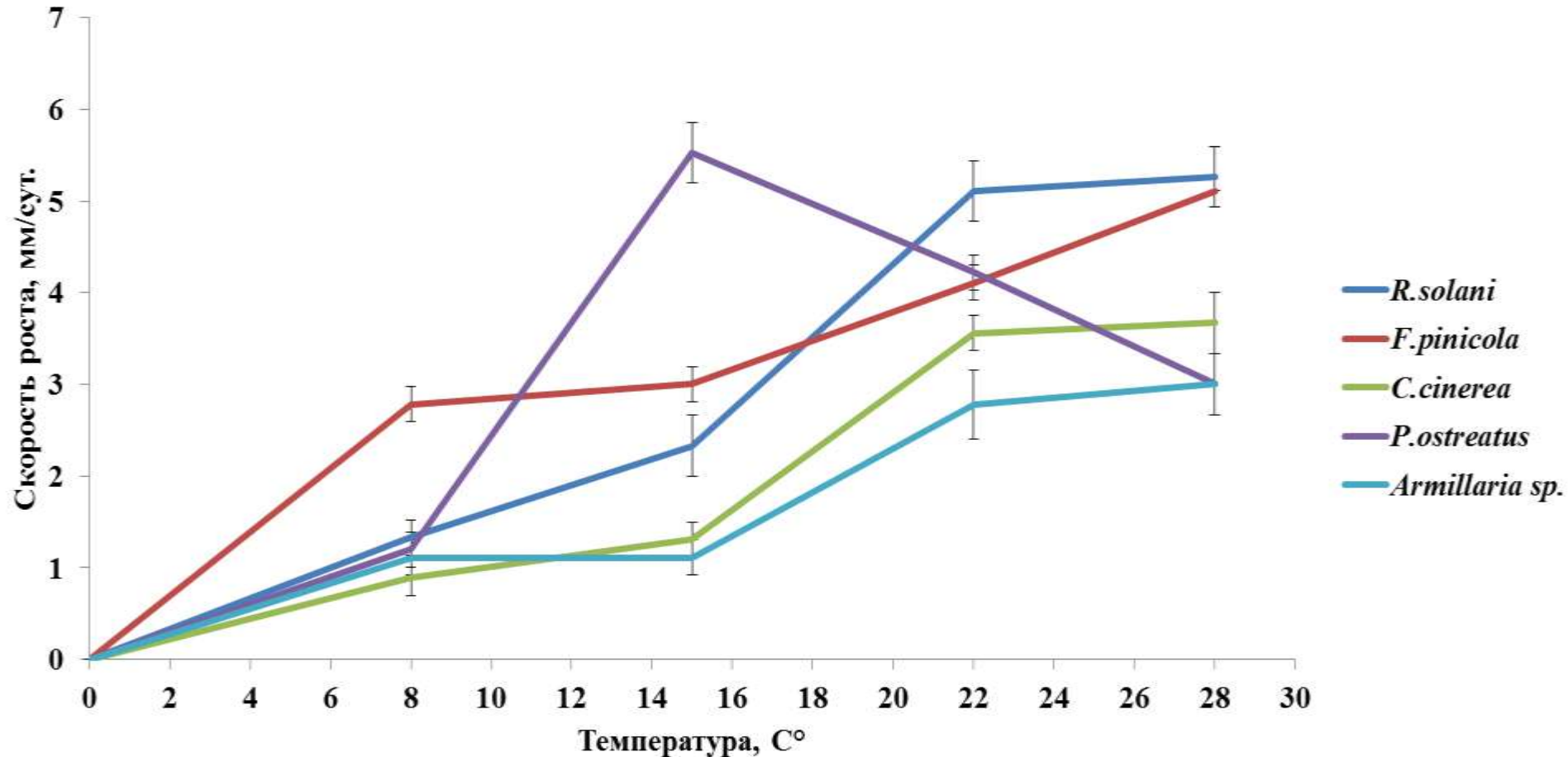
Pleurotus ostreatus



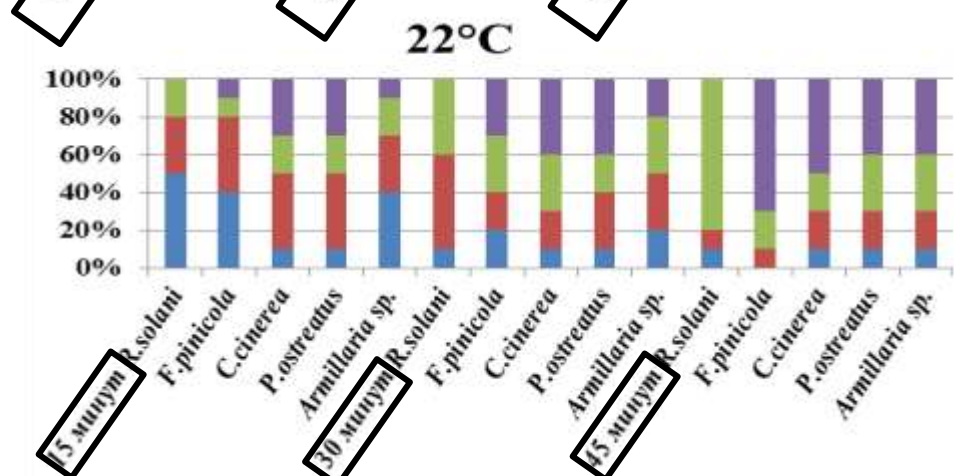
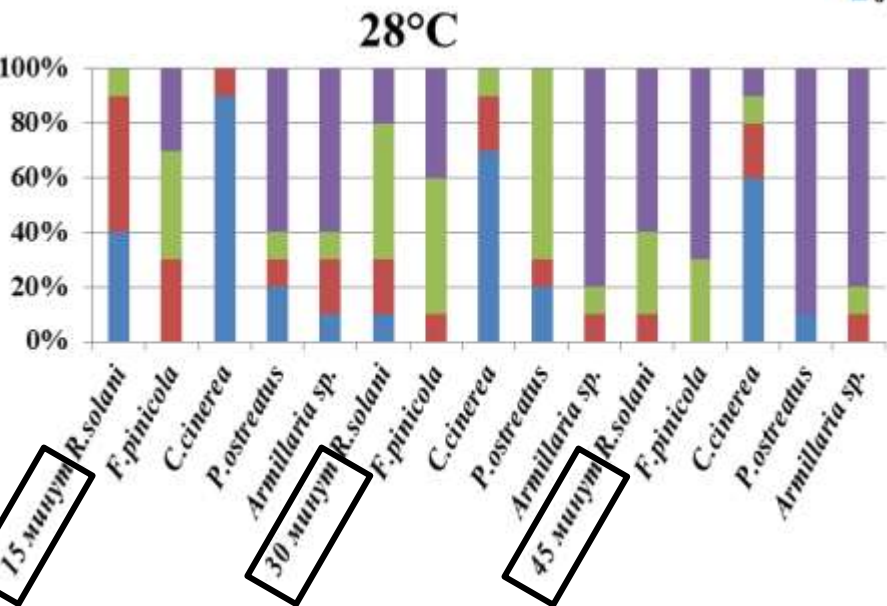
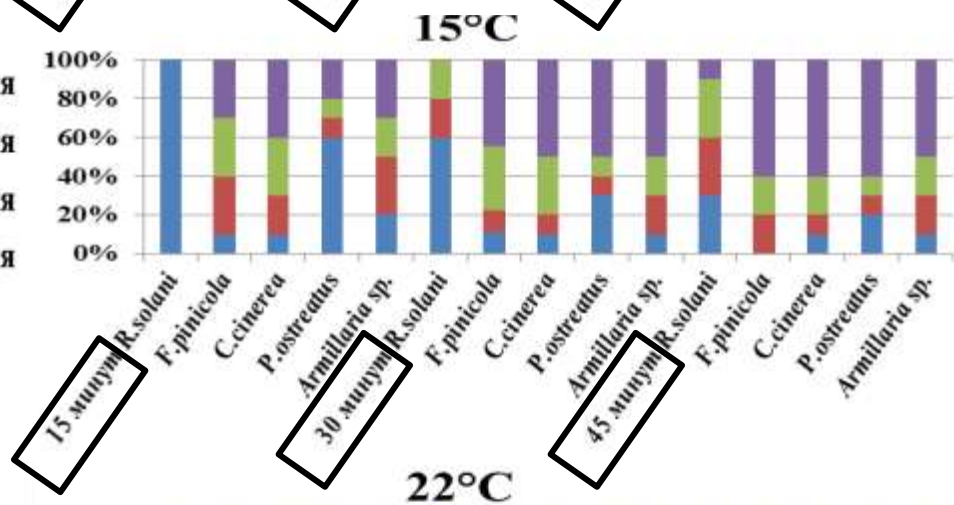
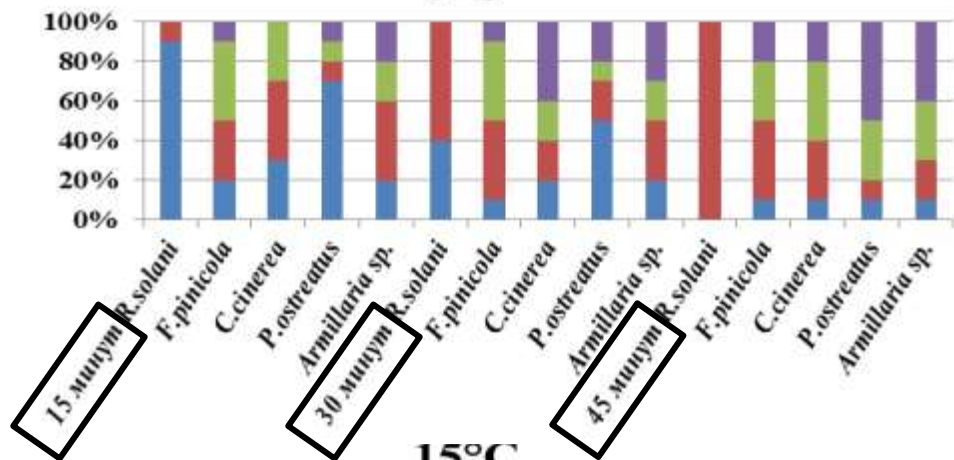
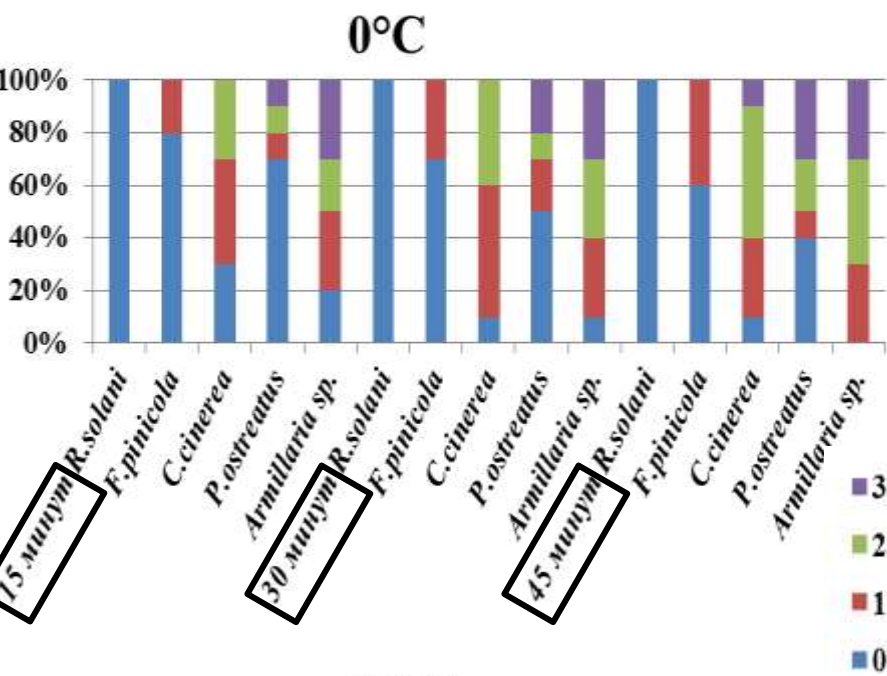
Armillaria sp.



ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ РОСТА МИЦЕЛИЯ НА СРЕДЕ ЧАПЕКА



ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ДИНАМИКУ ЭНДОЦИТОЗА



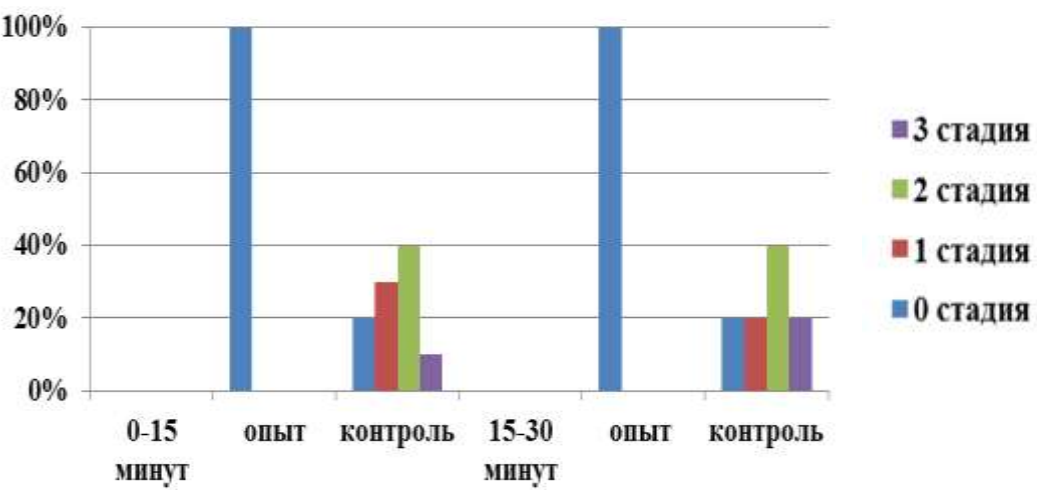
ИНГИБИТОРЫ ЦИТОСКЕЛЕТА И ЭНДОЦИТОЗА

Название	Концентрация	Время инкубации, мин	Действие
Латранкулин А	10 мкМ, 20 мкМ	20, 40	ингибитор сборки актиновых филаментов
Диназор	20 мкМ, 50 мкМ, 100 мкМ	30	ингибитор динамина
Нокодазол	2 мкг/мл, 10 мкг/мл	20, 60	ингибитор полимеризации микротрубочек
Натамицин	100 мкМ, 200 мкМ	30, 60	ингибитор RAFT-зависимого эндоцитоза
Кадаверин	0,3 мМ	30, 60	ингибитор клатрин- зависимого эндоцитоза и изменяет динамику актина

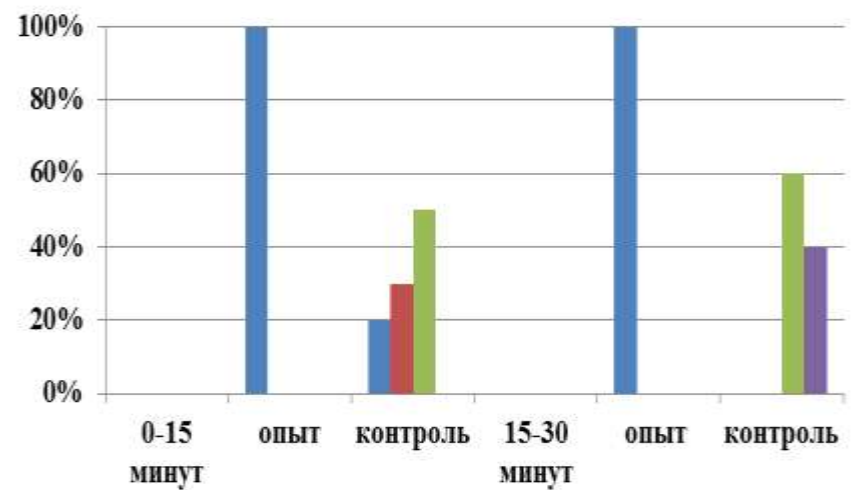
ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ ЦИТОСКЕЛЕТА И ЭНДОЦИТОЗА

НА ДИНАМИКУ ЭНДОЦИТОЗА У *R. solani*

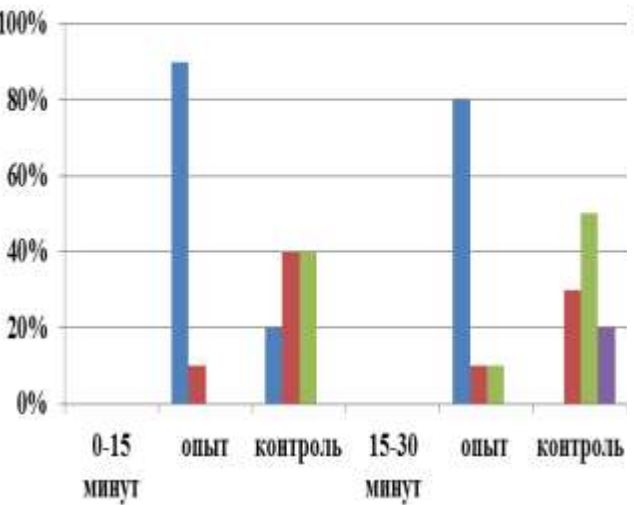
Латрункулин А (раб.р-р: 20 мкМ)
Время инкубации: 20 минут при 28°C



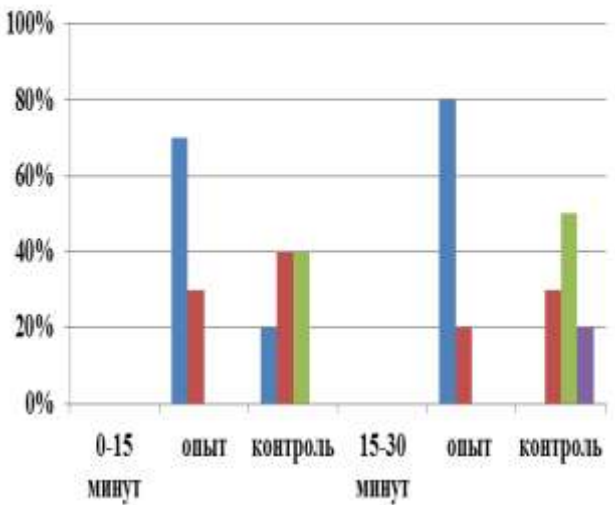
Диназор (раб.р-р: 100 мкМ)
Время инкубации: 30 минут при 28°C



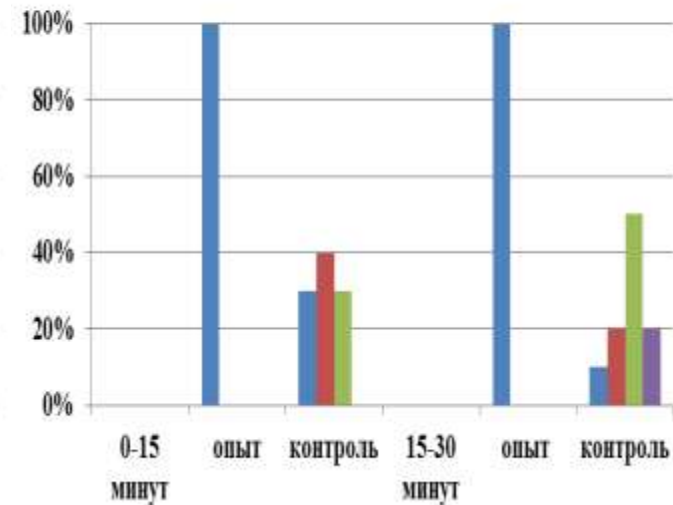
Нокодазол (раб.р-р: 10 мкг/мл)
Время инкубации: 30 минут при 25°C



Натамицин (раб.р-р: 200 мкМ)
Время инкубации: 30 минут при 25°C



Кадаверин (раб.р-р: 0,3 мМ)
Время инкубации: 60 минут при 25°C



ВЫВОДЫ:

1. Создана коллекция базидиальных грибов из разных эколого-трофических групп.
2. Отработана стандартная методика подготовки и окрашивания мицелия базидиальных грибов флуоресцентным маркером AM4-64.
3. Выявлено три типа динамики эндоцитоза при разных температурных режимах у изученных видов базидиальных грибов: первый тип эндоцитоза характерен для паразита *R. solani*, второй – для гумусового сапротрофа *C. cinerea* и третий – для ксилотрофов *Armillaria sp.*, *F. pinicola*, *P. ostreatus*.
4. Прямая корреляция скорости роста с динамикой эндоцитоза была отмечена для патогена *R. solani* при всех температурных режимах, для всех остальных исследованных видов грибов подобная закономерность была характерна для температур 22 и 28°C.
5. Ингибиторный анализ динамики эндоцитоза у *R. solani* продемонстрировал возможное участие в нем актинового и микротрубочкового цитоскелета, динамина и липидных доменов цитоплазматической мембраны.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!