**In vivo fehérje tirozin nitráció szelén-kezelt Astragalus fajokban**

Molnár Árpád1, 1, Szőllősi Réka1, Ördög Attila1, Feigl Gábor1, Kolbert Zsuzsanna1

1SZTE TTIK Növénybiológiai tanszék

A szelén növényi szövetekben történő akkumulációjának molekuláris következményei közül a reaktív nitrogén- és oxigénformák (RNF és ROF) egyensúlyának felborulását és a fehérje tirozin nitrációt tanulmányoztuk. Kísérleteinkben a nitrációs fehérjemódosítás szövetszintű lokalizációját és a növények szelén érzékenységének lehetséges összefüggését vizsgáltuk arra a kérdésre keresve a választ, hogy a nitráció lehet-e specifikus bizonyos sejtekre a szelén által okozott károsodás esetében?

Két csüdfű fajt, az *Astragalus membranaceus* nem hiperakkumuláló, szelén érzékeny és az *Astragalus bisulcatus* hipperakkumuláló, szeléntűrő fajt vizsgáltuk. Mindkét növényt steril körülmények között, táptalajon neveltük, és a kontroll csoport mellett 50 µM valamint 100 µM nátrium szelenáttal kezeltük őket. A gyökerek nitrogén-monoxid tartalmát DAF-FM DA festékkel, a peroxintrit tartalmat pedig Dihidrorodamin 123 festékkel vizsgáltam. A 3-nitrotirozin kimutatásához 4%-os paraformaldehidben fixált, agarba ágyazott, vibratómmal készített 100 µm vastag sziklevél és gyökér keresztmetszeteket használtunk fel. A 3-nitrotirozin immunolikalizálása poliklonális 3-nitrotirozin elleni elsődleges antitesttel (1:300) és fluoreszcein izotiocianáthoz kapcsolt IgG másodlagos antitesttel (1:1000) történt.

A hipperakkumuláló *A. bisulcatus* esetében a nitrogén-monoxid szint statisztikailag szignifikánsan csökkent a Se kezelés hatására. Az *A. membranaceus* ugyanezen kezelés hatására egy szignifikánsan megnövekedett nitrogén-monoxid szintet mutatott. A peroxinitrit szint a szelén toleráns *A. bisulcatus*-ban enyhén csökkent mindkét kezelési koncentráció hatására. A szelén érzékenyebb faj ezzel ellentétben 50 µM szelenát terhelés hatására szignifikáns növekedést mutatott. Az immunoreakció mindkét növényben létrejött és egyértelműen kimutatja, hogy jelen van egy kontroll állapotú nitráció, mely főleg az endodermisz sejtjeire és azok sejtfalaira lokalizálódik. A szelén kezelés hatására az *A. bisulcatus*-ban létrejött egy emelkedés a nitrált fehérjék mennyiségében, mely főleg az áteresztősejt-szerű sejteket érintette az endodermiszben. *A. membranaceus*-ban egy összességében erősebb nitrációs válasz keletkezett, mely a központi hengerben mutatott nagyobb változást. +A sziklevelekben Se-indukált növekedés a nitrációs jelben a teljes keresztmetszetben. A szelén érzékenyebb *A.* *membranaceus-ban* a szelenát terhelés fokozta a RNF szinteket és a fehérje nitráció mértékét. A hiperakkumuláló fajban RNF képződés nem volt megfigyelhető és a fehérje nitráció mértéke is kisebbnek bizonyult, ami alátámasztja a szelén tűrés és a nitráció közötti összefüggés meglétét.

A munka a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj (BO/00751/16/8) támogatásával készült. A kísérletek anyagi hátterét a következő pályázatok biztosították: NKFI-6 K120383 és NKFI-6 PD120962.