

EFFECT OF DECREASED LIGHT INTENSITY ON ARABIDOPSIS RESPONSIVENESS TO INCREASED LEVELS OF ENDOGENOUS CYTOKININS – A PROTEOMIC ANALYSIS

Jajtnerová M.¹, Dyčka F.², Bobařová J.², Brzobohatý B.¹

¹Mendel University in Brno & Institute of Biophysics AS CR, Brno, Czech Republic

²Institute of Analytical Chemistry AS CR, Brno, Czech Republic

E-mail: martimareckova@seznam.cz

ABSTRACT

Light and cytokinin (CK) signaling are intertwined at several levels, and the underlying molecular mechanisms are being actively researched. To get an insight into the modulation of CK action by quantity of white light at the proteomic level, we used 2-DE followed by image analysis and MALDI-TOF/TOF MS to compare changes in steady-state protein levels in *Arabidopsis thaliana* seedlings with increased content of endogenous CKs cultivated at standard (90 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and decreased (20 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) white light intensities. After activation of the CK-biosynthetic gene *ipt*, we followed proteomic changes during subsequent 5 days of cultivation. 61 differentially expressed protein spots (representing about 12% of detected spots) were found. Out of the 61 protein spots, 36 were regulated in a comparable fashion at both light intensities, and 2 and 23 were differentially regulated at only standard or decreased light intensity, respectively. Till now 56 proteins have been identified, and can be classified as proteins involved in seed germination, photosynthesis, carbon and nitrogen metabolism and metabolism of xenobiotics.

Key words: Cytokinins, 2D electrophoresis, *Arabidopsis*

Acknowledgments: Supported by grants IAA600040701, LC06034, 1M06030, AV0Z50040507, AV0Z50040702 and AV0Z40310501.

ÚVOD

Vedle auxinů hrají klíčovou roli v hormonální regulaci vývoje rostlin i cytokininy. Všechny přírodní cytokininy jsou deriváty adeninu substituované v N6 pozici. Cytokininy ovlivňují růst a vývoj rostlin, podílejí se na regulaci organogeneze a regeneraci rostlin. Molekulární mechanismy jejich účinku jsou intenzivně studované jak na genomické, tak na proteomické úrovni. Bylo prokázáno, že cytokininy mají efekt na prodlužování délky hypokotylu. Elongace hypokotylu je velmi citlivá a závisí nejen na vnějších faktorech jako je například světlo a teplota, ale i na vnitřních faktorech, kterými jsou například rostlinné hormony. Ke studiu proteomu byla využita 2D elektroforéza. Nejdříve jsou proteiny separované podle jejich isoelektrického bodu pomocí isoelektrické fokusace. Potom se takto rozdělené proteiny separují podle jejich molekulové hmotnosti pomocí SDS-PAGE. Detekce proteinů na gelu je možná pomocí barvení např. stříbrem nebo Coomassie Brilliant Blue. Dále je možné využít specifickou detekci např. pomocí fluorescence nebo protilátek.