

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ КЛЕТОК СУСПЕНЗИОННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ КУЛЬТУР

В.И. Левченко, А.А. Булатова, М.П. Шапчиц, А.И. Соколик

Белорусский Государственный Университет, Минск, Республика Беларусь

Sokolik@bsu.by

Введение

Мощным инструментом в исследовании механизмов ионного транспорта на уровне плазматической мембраны живых клеток является использование метода фиксации потенциала на небольшом участке мембраны – пэтч-кламп [1]. В отношении растительных клеток существуют два препятствия, резко ограничивающих возможность осуществления этого метода. Первым из них является наличие у растений сравнительно толстой целлюлозно-пектиновой клеточной стенки, которая сама по себе, помимо механической функции, является своеобразной «средой обитания» клеток (в совокупности клеток – ткани – именуемой апопластом) со строго контролируруемыми условиями и обилием регуляторных функций. Ферментативное удаление клеточной стенки при получении протопластов для использования в технологии «пэтч-кламп», как было неоднократно показано, лишает клетки многих из присущих им функций.

Альтернативный пэтч-клампу классический метод электрофизиологического исследования, использование стеклянных внутриклеточных микроэлектродов, также позволяет осуществлять фиксацию потенциала на клеточных мембранах лишь в ограниченных случаях. Причиной тому является электрическое соединение всех клеток в пределах растительных тканей при помощи цитоплазматических контактов (плазмодесм) в единую сеть, именуемую симпластом. В результате при пропускании электрического тока, лишь часть его будет проходить через мембрану исследуемой клетки, в то время как остальная часть будет диссипировать, утекая через плазмодесмы в соседние клетки. Поэтому возможность осуществления полноценной фиксации потенциала на мембране при помощи микроэлектродов возможна лишь для некоторых типов растительных клеток, электрически изолированных друг от друга (т.е. не связанных с другими клетками растения при помощи плазмодесм). Такими клетками в высших растениях являются замыкающие клетки устьиц, недолгоживущие отслаивающиеся одиночные клетки корневого чехлика, а также (согласно довольно противоречивым данным) корневые волоски на определенных стадиях своего развития.

Суспензионные культуры растительных клеток имеют широкое применение в сфере биотехнологии, где они используются для синтеза растительных вторичных метаболитов. В связи с широким практическим использованием, клетки суспензионных культур являются также объектом интенсивных исследований различных физиолого-биохимических, клеточно-биологических, генетических аспектов функционирования растительных клеток. Использование суспензионных культур в исследовательской практике имеет ряд преимуществ, так как в отличие от нативных растений культуральные клетки характеризуются более простой и универсальной процедурой культивирования, быстрым прохождением культивационного цикла и простотой манипулирования. Еще одним неоспоримым преимуществом суспензионных клеток с точки зрения электрофизиологического исследования является то, что большинство из них либо организованы в небольшие кластеры, либо существуют в виде одиночных клеток, будучи, таким образом, изолированными друг от друга электрически.

Несмотря на это очевидное преимущество, культуральные клетки, тем не менее, не вызвали большого интереса исследователей ионного транспорта в растениях, результатом