

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений

Скипор
Иван Андреевич

Гиперполяризация плазматической мембраны клеток *Nitella flexilis*
при высоком pH: H^+/OH^- проводимость

Аннотация дипломной работы

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент Е.Н. Крытынская

Допущена к защите
«__» _____ 2020 г.
Зав. кафедрой клеточной биологии
и инженерии растений,
кандидат биологических наук, доцент И.И. Смолич

Минск, 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	3
РЕФЕРАТ	4
РЭФЕРАТ	5
ABSTRACT	6
ВВЕДЕНИЕ	7
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	8
1.1 Мембранотропные эффекты. Методы исследования	8
1.2 Мембранный потенциал. Уравнение Нернста	14
1.3 Редокс-агенты, обладающие мембранотропным действием. Перекись водорода	15
1.4 H^+/OH^- - каналы. Регуляция активности	18
1.5 Ионы цинка в роли ингибитора H^+/OH^- -каналов	20
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	22
2.1 Объект исследования	22
2.2 Метод исследования	22
2.3 Схема опытов	24
2.4 Статистическая обработка экспериментальных данных	25
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	27
3.1 Гиперполяризация плазматической мембраны клеток <i>Nitella flexilis</i> при высоком pH: H^+/OH^- -проводимость	27
3.2 Проницаемость к ионам K^+ при подщелачивании внешней среды	31
3.3 Регуляция активности H^+/OH^- -каналов	37
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	41
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	42

РЕФЕРАТ

Сведения об объеме дипломной работы: объем данной дипломной работы составляет 44 стр., в т.ч. 8 рисунков, 5 таблиц, 36 источников литературы.

Перечень ключевых слов: *Nitella flexilis*, кислотность, H^+/OH^- -каналы, мембранный потенциал.

Объект исследования: интернодальные клетки харовой водоросли *Nitella flexilis*, классический тест-объект электрофизиологии.

Цель: оценить сдвиги электрофизиологических параметров плазматической мембраны клеток *Nitella flexilis* при повышении внеклеточного pH (pH_o) от 9 до 11. Подтвердить на клетках *Nitella flexilis* ранее выдвинутую гипотезу, основанную на электрофизиологических данных Bisson: выше критического уровня pH 9 плазматическая мембрана приобретает новые свойства, обусловленные активацией H^+/OH^- -каналов.

Методы исследования: электрофизиология, монополярное отведение мембранного потенциала.

В ходе экспериментов установлено, что сдвиг кислотности искусственной прудовой воды в щелочную область выше критического уровня 9,0 вызывает быстрые отклонения (в течение 4-6 минут) мембранного потенциала на клетках *Nitella flexilis* в сторону гиперполяризации. Гиперполяризация имела место как при pH 10, так и 11, на фоне низкого и высокого калия. В отношении pH 9 достоверных сдвигов не регистрировали. Гиперполяризация на фоне щелочного pH была быстротечна и подобна описанной М. Bisson на клетках *Chara australis*. На лицо подавление проницаемости мембраны к ионам K^+ при активации H^+/OH^- -каналов. Полученные результаты подтверждают ранее выдвинутую гипотезу, основанную на электрофизиологических данных Bisson: выше критического уровня pH 9 плазматическая мембрана клеток *Nitella flexilis* приобретает новые свойства, обусловленные активацией H^+/OH^- -каналов. Каналы чувствительны к ионам цинка. 1,0 mM $ZnSO_4$ обратимо ингибирует активность исследуемых каналов нового тест-объекта – клетках *Nitella flexilis*, однако полного подавления, заявленного на клетках *Chara australis*, в отмеченной концентрации установлено не было.

РЭФЕРАТ

Звесткі аб аб'ёме дыпломнай працы: аб'ём дадзенай дыпломнай працы складае 44 стар., у т. ч. 8 малюнкаў, 5 табліц, 36 крыніцы літаратуры.

Пералік ключавых слоў: *Nitella flexilis*, кіслотнасць, H^+/OH^- -каналы, мембранны патэнцыял.

Аб'ект даследавання: интернадальные клеткі харовой водараслі *Nitella flexilis*, класічны тэст-аб'ект электрафізіялогіі.

Мэта: ацаніць зрухі электрафізіялагічных параметраў плазматычнай мембраны клетак *Nitella flexilis* пры павышэнні пазаклеткавай pH (pHo) ад 9 да 11. Пацвердзіць на клетках *Nitella flexilis* раней вылучаную гіпотэзу, заснаваную на электрафізіялагічных дадзеных Bisson: вышэй крытычнага ўзроўню pH 9 плазматычная мембрана набывае новыя ўласцівасці, абумоўленыя актывацыяй H^+/OH^- -каналаў.

Метады даследавання: электрафізіялогія, монополярное адвядзенне мембраннага патэнцыялу.

У ходзе эксперыментаў устаноўлена, што зрух кіслотнасці штучнай сажалкавай вады ў шчолачную вобласць вышэй крытычнага ўзроўню 9,0 выклікае хуткія адхіленні (на працягу 4-6 хвілін) мембраннага патэнцыялу на клетках *Nitella flexilis* ў бок гиперполяризации. Гиперполяризация мела месца як пры pH 10, так і 11, на фоне нізкага і высокага калія. У дачыненні да pH 9 пэўных зрухаў не рэгістравалі. Гиперполяризация на фоне шчолачнага pH была хуткабежная і падобная да апісанай M. Bisson на клетках *Chara australis*. На твар падаўленне пранікальнасці мембраны да іонам K^+ пры актывацыі H^+/OH^- -каналаў. Атрыманыя вынікі пацвярджаюць раней вылучаную гіпотэзу, заснаваную на электрафізіялагічных дадзеных Bisson: вышэй крытычнага ўзроўню pH 9 клетак плазматычная мембрана *Nitella flexilis* набывае новыя ўласцівасці, абумоўленыя актывацыяй H^+/OH^- -каналаў. Каналы адчувальныя да іонам цынку. 1,0 mM $ZnSO_4$ зварачальна інгібіруе актыўнасць даследаваных каналаў новага тэст-аб'екта – клетках *Nitella flexilis*, аднак поўнага падаўлення, заяўленага на клетках *Chara australis*, у адзначанай канцэнтрацыі ўстаноўлена не было.

ABSTRACT

Information about the volume of the thesis: the volume of this thesis is 44 pages, including 8 drawings, 5 tables, 36 sources of literature.

List of keywords: *Nitella flexilis*, high value of pH, H^+/OH^- conductivity.

Object of study: internodal cells of the *Nitella flexilis* char alga, a classic test object of electrophysiology.

Purpose: to evaluate the changes in the electrophysiological parameters of the plasma membrane of *Nitella flexilis* cells with an increase in extracellular pH (pHo) from 9 to 11. Confirm the previously hypothesized on *Nitella flexilis* cells based on Bisson electrophysiological data: the plasma membrane acquires new properties due to a critical pH level of 9 activation of H^+/OH^- -channels.

Research methods: electrophysiology, monopolar abduction of the membrane potential.

During the experiments, it was found that the shift in the acidity of artificial pond water to the alkaline region above the critical level of 9.0 causes rapid deviations (within 4-6 minutes) of the membrane potential on *Nitella flexilis* cells towards hyperpolarization. Hyperpolarization took place both at pH 10 and 11, against a background of low and high potassium. With respect to pH 9, no significant shifts were recorded. Hyperpolarization against a background of alkaline pH was fleeting and similar to that described by M. Bisson on *Chara australis* cells. On the face, suppression of membrane permeability to K^+ ions upon activation of H^+/OH^- -channels. The results confirm the previously put forward hypothesis based on Bisson electrophysiological data: above the critical level of pH 9, the plasma membrane of *Nitella flexilis* cells acquires new properties due to the activation of H^+/OH^- channels. Channels are sensitive to zinc ions. 1.0 mM $ZnSO_4$ reversibly inhibits the activity of the studied channels of a new test object – *Nitella flexilis* cells, however, the complete suppression reported on *Chara australis* cells was not found in the indicated concentration.