

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

Толкачева
Юлия Витальевна

**ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВЫХОДЯЩЕГО ПОТОКА
МАЛАТА ЧЕРЕЗ ПЛАЗМАТИЧЕСКУЮ МЕМБРАНУ КЛЕТОК КОРНЯ
ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ**

Дипломная работа

Научный руководитель:
член-корреспондент НАН Беларуси,
доктор биологических наук,
профессор Демидчик В.В.

Допущен к защите
«___» _____ 2024 г.
Зав. кафедрой
_____ О.Г. Яковец

Минск, 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	3
РЕФЕРАТ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	7
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	9
1.1 Техника пэтч-кламп для анализа проводимости плазматической мембраны	9
1.2. Влияние ионов алюминия на клеточные токи	10
1.3 Анионные каналы высших растений	12
1.4 Роль малат-анионов в связывании катионов алюминия	16
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	18
2.1 Материалы и методы исследования проницаемости мембраны высших растений для анионных токов.....	18
2.2 Статистическая обработка данных.....	24
ГЛАВА 3 ПРОНИЦАЕМОСТЬ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ ДЛЯ МАЛАТ-АНИОНОВ.....	26
3.1 Анализ токов малата через плазматическую мембрану клеток корня <i>Arabidopsis thaliana</i> L.....	26
3.2 Выходящие токи малата через плазматическую мембрану клеток корня <i>Triticum aestivum</i> L.	30
3.3 Обсуждение результатов.....	32
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	33
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	35

РЕФЕРАТ

Дипломная работа: 38 страниц, 13 рисунков, 27 источников.

Ключевые слова: ИОННЫЙ КАНАЛ, МАЛАТ, АНИОНЫ, ПЭТЧ-КЛАМП, ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЯ.

Дипломная работа посвящена электрофизиологическому анализу выходящего потока малата через плазматическую мембрану клеток корня высших растений.

Целью работы являлось установление закономерностей выхода малат-анионов из клеток корня высших растений и установление генетической природы данного явления.

Объектом исследования являлись растения *Triticum aestivum* L. (пшеница), *Arabidopsis thaliana* L. Heynh (арабидопсис) дикого типа (Col-0) и трансгенной линии *Atalmt1*, лишенной малат-проницаемого анионного канала «Aluminum-Activated Malate Transporter 1».

В работе была использована техника локальной фиксации потенциала (пэтч-кламп), а также методы выращивания растений в стерильных стандартизированных условиях и ферментативного выделения протопластов.

Полученные результаты позволили установить закономерности выхода малат-анионов через плазматическую мембрану клеток корня высших растений и показать их генетическую природу, а именно прямое вовлечение ALMT1. Были зарегистрированы и проанализированы вольт-амперные характеристики анионной проводимости плазматической мембраны клеток корня пшеницы и арабидопсиса в условиях доминирования наружу-направленной анионной проводимости. Электрофизиологический анализ выявил статистически достоверные изменения в выходящих токах малата у растений арабидопсиса Col-0 и *Atalmt1*, что указывает на необходимости продукта гена *Atalmt1* для выходящего потока малата из клеток корня. Работа вносит вклад в понимание механизмов транспорта органических анионов в корне высших растений и их потенциальной роли в физиологических явлениях. С практической точки зрения результаты работы могут быть рекомендованы для дальнейших разработок в области метаболической и ионной регуляции функций у высших растений.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа: 38 старонак, 13 ілюстрацый, 27 крыніцаў.

Ключавыя словы: ІЁННЫ КАНАЛ, МАЛАТ, АНІЁНЫ, ПЭТЧ-КЛАМП, ЭЛЕКТРАФІЗІЯЛОГІЯ.

Дыпломная работа прысвечана электрафізіялагічнаму аналізу выходзячага патоку малата праз плазматычную мембрану клетак караней вышэйшых раслін.

Мэтай работы з'яўлялася ўсталяванне заканамернасцяў выхаду малат-аніёнаў з клетак караня вышэйшых раслін і ўсталяванне генетычнай прыроды дадзенай з'явы.

Аб'ектам даследавання расліны *Triticum aestivum* L. (пшаніца), *Arabidopsis thaliana* L. Heynh (арабідопсіс) дзікага тыпу (Col-0) і трансгеннай лініі *Atalmt1*, пазбаўленай малат-пранікальнага аніённага канала «Aluminum-Activated Malate Transporter 1».

У рабоце была выкарыстана тэхніка лакальнай фіксацыі патэнцыялу (пэтч-кламп), а таксама метады вырошчвання раслін у стэрыльных стандартызаваных умовах і ферментатыўнага выдзялення пратапластаў.

Атрыманыя вынікі дазволілі ўсталяваць заканамернасці выхаду малат-аніёнаў праз плазматычную мембрану клетак караня вышэйшых раслін і паказаць іх генетычную прыроду, а таксама прамое ўцягванне ALMT1. Былі зарэгістраваны і прааналізаваны вольт-амперныя характарыстыкі аніённай праводнасці плазматычнай мембраны клетак караня пшаніцы і арабідопсісу ва ўмовах дамінавання вонк-накіраванай аніённай праводнасці. Электрафізіялагічны аналіз выявіў статыстычна дакладныя змены выходзячага тока малата ў раслін арабідопсісу Col-0 і *Atalmt1*, што паказвае на неабходнасці прадукта гена *Atalmt1* для выходзячага струменя малата з клетак караня. Работа робіць унёсак у разуменне механізмаў транспарта арганічных аніёнаў у карані вышэйшых раслін і іх патэнцыйнай ролі ў фізіялагічных з'явах. З практычнага пункту гледжання вынікі работы могуць быць рэкамендаваны для далейшых распрацовак у галіне метабалічнай і іённай рэгуляцыі функцый у вышэйшых раслін.

ABSTRACT

Graduate work: 38 pages, 13 drawing, 27 sources.

Key words: ION CHANNEL, MALATE, ANIONS, PATCH CLAMP, ELECTROPHYSIOLOGY.

The graduate work is devoted to the electrophysiological analysis of the outgoing flow of malate through the plasma membrane of higher plant cells.

The purpose of the work was to establish the patterns of formation of malate anions from the cells of higher plants and to establish the genetic nature of these phenomena.

The objects of the study were plants *Triticum aestivum* L. (wheat), *Arabidopsis thaliana* L. Heynh (arabidopsis) wild type (Col-0) and the transgenic line *Atalmt1*, lacking the malate-permeable anion channel «Aluminium-activated malate transporter 1».

The work used the technique of local fixation (patch clamp), as well as methods of growing plants under sterile standard conditions and enzymatic isolation of protoplasts.

The results obtained make it possible to establish the patterns of release of malate anions through the plasma membrane of higher plant cells and show their genetic nature, namely the direct excitation of ALMT1. The current-voltage characteristics of the anion conductivity of the plasma membrane of wheat and Arabidopsis cells were recorded and analyzed under conditions of dominance of medium-directional anion conductivity. Electrophysiological analysis revealed statistically significant changes in the initial malate currents in Arabidopsis plants. Col-0 and *Atalmt1* indicate the requirement of the *Atalmt1* gene product for the outflow of malate from the cell. The work contributes to the understanding of the conditions for the transport of anions into indigenous higher plants and their guaranteed contribution to the consequences of these phenomena. From a practical point of view, the results of the work may be preferable for developments in the field of metabolic and ionic regulation of functions in higher plants.