

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ РОЛИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ДРОЖЖЕЙ КЛЕТОК *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*. Т-985

Пхйю Мьинт У, В.И. Панфилов, И.Г. Антропова, А.Е. Кузнецов

Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва, Россия

В природе активные формы кислорода, АФК, к которым относят H_2O_2 , O_3 , O , $\bullet OH$, $O_2^{\bullet -}$, HO_2^{\bullet} , HO_2^- , NO , некоторые органические свободные радикалы: алкильные R^{\bullet} , алкилпероксидные RO_2^{\bullet} , алкоксильные RO^{\bullet} , анион-радикалы восстановительной природы $D^{\bullet -}$ и некоторые другие образуются в результате реакций каталитического инициирования, растворения активных газов из атмосферы, радиационно-химического инициирования, кавитационных эффектов, фотохимического инициирования, биологической эмиссии. Радиационное инициирование в отсутствие радиационного загрязнения водной среды осуществляется под действием естественного радиоактивного фона и происходит прежде всего в результате радиолитического распада воды. В обычных условиях вклад этой составляющей в суммарную скорость образования радикалов незначителен, однако он резко возрастает при радиационном загрязнении. Солнечное УФ-излучение инициирует образование свободных радикалов и протекание реакций фотохимического окисления.

Микроорганизмы, обитающие на поверхности открытых водоемов, почвы, листьев растений, подвержены наиболее активному воздействию АФК. К таким микроорганизмам можно отнести галобактерии, обитающие в мелководных соленых озерах в аридной климатической зоне, дрожжи *S. cerevisiae*, р. *Candida*, обитающие на поверхности листьев и плодов растений, и многие другие.

Воздействие АФК вызывают в природных биоценозах и их компонентах изменения, которые принято характеризовать как стрессовые, а факторы, противостоящие воздействию стресса – как антистрессовые. Так, в нивелировании стресса, индуцированного воздействием пероксида водорода, могут участвовать абиогенные процессы его распада, катализируемого микроколичествами ионов металлов переменной валентности (ионами и комплексами меди и железа и др.).

В организме человека существуют различные системы защиты от АФК, включая радиопротекторы, антиоксидантные системы и репарационные процессы. К радиопротекторам [1] относят большинство известных радиозащитных соединений, например, аминокислоты (меркамин, пропамин, аминоэтиллизотиоуроний и др.), аминокислоту цистеин, цистамин, аскорбиновую кислоту, каротин, некоторые биогенные амины, не содержащие сульфгидрильных групп, цианофоры, аминокислоты, некоторые спирты, отдельные представители углеводов и др. Поступление в организм компонентов пищи и напитков, часто содержащих радиопротекторы, вещества с антиоксидантной и прооксидантной активностями, влияет на защиту от АФК и радиационного воздействия, что необходимо учитывать в профилактике неблагоприятных последствий. Однако целенаправленное профилактическое введение различных радиопротекторов для защиты организма от вредного действия ионизирующей радиации и лучевой болезни часто оказывается неэффективным.

Цель работы – получение кривых доза-эффект при воздействии на клетки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* ионизирующего излучения и исследование влияния видимого света на рост и жизнеспособность клеток после облучения на рентгеновской установке

Культивирование дрожжей *S. cerevisiae* Т-985 [2] проводили в аэробных условиях при перемешивании среды в колбах на термостатируемой качалке при 28°C, 150 об/мин. Объем колб составлял 200 мл, объем простерилизованной среды в колбах – 50 мл, начальное значение pH среды 2,5. Посевной материал составлял, в зависимости от условий постановки эксперимента – от 2 до 10 % об. Для сравнительной оценки использовали варианты культивирования с дрожжами, последовательно адаптируемыми к внесению H_2O_2 с уровнем световой освещенности 750 Лк. Состав среды для культивирования дрожжей *S. cerevisiae*, г/л: $(NH_4)_2SO_4$ – 5,0; KH_2PO_4 – 1,0; KCl – 0,15; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,2; дрожжевой экстракт – 0,5; сахароза – 30; вода – водопроводная, pH 5,8.

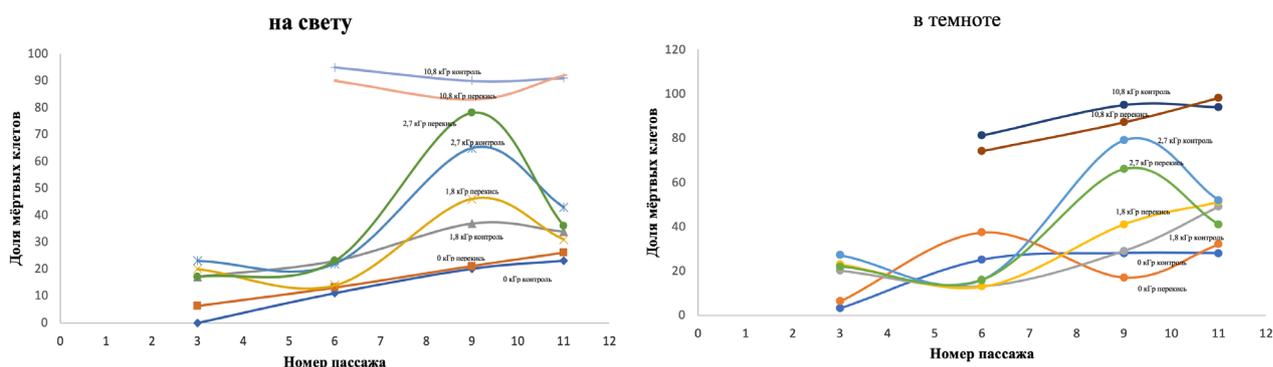


Рис. 1. Зависимость доли мёртвых клеток от дозы рентгеновского облучения при последующем выдерживании суспензии дрожжей на дневном свету и темноте

По ходу пассирования и адаптации к пероксиду водорода велись 2 линии дрожжей, по 2 колбы в каждой линии. Линия 1 – контроль, без внесения $H_2 O_2$ и линия 2 – с внесением $H_2 O_2$ на 18–36 час культивирования в количестве 0,6 г/л на всех пассажах. Всего провели 11 пассажей. По окончании культивирования на стадии 3-го, 6-го, 9-го и 11-го пассажей из колб отбирались аликвоты суспензии дрожжей, переносились в стикленовые пробирки объемом по 2 мл и через 1 часа облучались на рентгеновской установке Model – КАЛАН 4 в ИМСЭН-ИФХ РХТУ им. Д.И. Менделеева, мощность поглощенной дозы по дозиметру Фрикке равна 3 Гр/с при различных дозах облучения [3]. После облучения часть пробирок выдерживалась на свету, а другая часть – в темноте, а именно в течение 3 ч – пробирки 3-го пассажа, 3 сут – 6-го пассажа, 1 сут – 9-го и 11-го пассажей.

Зарегистрировано, что критическими для всех вариантов пассирования и облучения являются дозы около 10 кГр, при которых доля мертвых клеток составляет свыше 80 %. Без облучения существенной разницы в доле мертвых клеток, пассированных на свету с внесением пероксида водорода и в контрольной линии, пассированной на свету без внесения пероксида водорода, не наблюдалось. Также не наблюдалось существенной разницы в доле мертвых клеток при облучении с последующим выдерживанием на свету и в темноте. В то же время отсутствие явных различий между вариантами рентгеновского облучения дрожжей, адаптированных и не адаптированных к пероксиду водорода, а также между вариантами рентгеновского облучения на свету и в темноте свидетельствует об отсутствии перекрестных реакций между ответом клеток на оксидативный стресс, а также фоторепарацией и ответом клеток на жесткое рентгеновское облучение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Радиопротекторы [электронный ресурс], режим доступа: <http://www.medical-enc.ru/16/radioprotectors.shtml> (дата обращения 2 парля 2019)
2. Калёнов С.В. Культивирование дрожжей и галобактерий в условиях контролируемого окислительного стресса. Дисс. на соис. учен. степени к.т.н. М.: РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2007. –197 стр.
3. Пхйю Мьинт У. Реакционная способность донника, багульника, муррайи и и некоторых кумаринов в их составе. Дисс. на соис. учен. степени к.хим. н. М.: РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2018. – 145 стр.
4. Т.В. Меледина, С.Г. Давыденко. Дрожжи *saccharomyses cerevisiae* морфология, химический состав, метаболизм. – Санкт-Петербург, 2015.