

## Изучение окислительно-восстановительного статуса клеток *Yarrowia lipolytica* в процессе хронологического старения

Научный руководитель – Дерябина Юлия Ивановна

Иванова Н.О.<sup>1</sup>, Секова В.Ю.<sup>2</sup>

1 - Московский государственный машиностроительный университет (МАМИ), Институт инженерной экологии и химического машиностроения, Экологический факультет, Москва, Россия, E-mail: halfblood394@gmail.com; 2 - Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Факультет биотехнологии и промышленной экологии (БПЭ), Москва, Россия, E-mail: beauveria606@gmail.com

Изучение старения различных эукариотических организмов является важной задачей современной науки, направленной на продление активного долголетия человека. В данной работе мы изучали окислительно-восстановительный статус модельного организма - полиэкстремофильных дрожжей *Yarrowia lipolytica* - в процессе хронологического старения культуры. Продолжительное культивирование (>500 ч.) показало, что продолжительность лаг-фазы составляла ~8 и ~16 ч., в то время как переход в стационарную стадию роста происходил через ~40 и 70-80 ч. культивирования для рН=5,5 и 9,0 соответственно. При этом не наблюдалось каких-либо признаков деградации культуры на поздних стадиях культивирования.

В работе использовали штамм *Y. lipolytica* W 29 (дикий тип), полученный из коллекции типовых штаммов CIRM-Levures (Франция). Выращивание штамма для дальнейших физиологических экспериментов выполняли на синтетической среде YNB.

Для проведения физиологических экспериментов рабочую культуру клеток *Y. lipolytica* выращивали при значениях рН=5,5 и рН=9,0 при скорости аэрации 180 об./мин и температуре 28°C и проводили отбор проб на 18, 40, 70 и 120 часах роста. Активности СОД и каталазы измеряли согласно методикам [1] и [2] соответственно. Скорость дыхания и активность альтернативной оксидазы митохондрий измеряли полярографическим методом в соответствии с методикой, предложенной в работе [3].

Во всех образцах клеток была исследована активность ферментов первой линии защиты против активных форм кислорода (АФК) - супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы - и показано, что активность СОД при рН=9,0 незначительно изменялась в начальных фазах роста клеток, увеличивая свое значение к 70 ч. роста и достигая пика после 100 часов культивирования. При культивировании клеток *Y. lipolytica* при рН=5,5 увеличение активности СОД наблюдалось на 70 ч. роста, в то время как активность каталазы резко возрастала в логарифмической фазе роста, постепенно снижаясь в стационарной стадии, что могло свидетельствовать о стрессовом воздействии на дрожжевые клетки в стадии перехода в стационар и последующей постепенной адаптации при дальнейшем культивировании.

Анализ интенсивности дыхания и вклада альтернативной оксидазы митохондрий у клеток *Y. lipolytica* продемонстрировал, что при рН=5,5 скорость дыхания клеток достигала максимального значения в логарифмической фазе роста (20,8 нг-атом/мг), постепенно уменьшаясь в переходной фазе (до 2,6 нг-атом/мг) и стабилизируясь в стационаре (8,1-8,8 нг-атом/мг). При рН=9,0 клетки дрожжей также адаптировались к условиям ограниченных ресурсов на более поздней стадии роста, что выражалось в уменьшении скорости дыхания с 9,1 (40 ч. роста) до 3,3 нг-атом/мг (70 ч. роста) и 5,5 нг-атом/мг в стационаре (120 ч. роста). При рН=5,5 цианид-резистентность дыхания была минимальна в логарифмической фазе роста (12%), возрастала по мере перехода в стационар (до 101%)

и незначительно изменялось в стационарной фазе роста (от 75% до 94%). При культивировании клеток *Y. lipolytica* при pH=9,0 наблюдали постепенное возрастание цианид-резистентности в логарифмической фазе роста с 39% до 85%, резкий скачок на 70 ч. роста (160%), связанный с переходом в стационар, и дальнейшую стабилизацию значения резистентности (86%).

На основании полученных данных можно сделать следующие выводы: адаптация клеток *Y. lipolytica* к продолжительному культивированию сопровождается скачком активности антиоксидантных ферментов и активацией цианид-резистентной оксидазы митохондрий в стадии перехода в стационар и раннем стационаре, что позволяет компенсировать состояние гиперокисления и обеспечить длительное выживание культуры в стационарной фазе роста.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-80012.

### Источники и литература

- 1) Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопросы мед. химии. 1990. Т. 2. С. 88–91.
- 2) Chance B., Maehly A.C. The assay of catalases and peroxidases // Methods Biochem Anal. 1954. V. 1. P. 357-424.
- 3) Vishwakarma A., Dalal A., Tetali S.D., Kirti P.B., Padmasree K. Genetic engineering of AtAOX1a in *Saccharomyces cerevisiae* prevents oxidative damage and maintains redox homeostasis // FEBS Open Bio. 2016. V. 6. №. 2. P. 135-146.