УДК 577.391:663.12/14

РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КЛЕТОК ДРОЖЖЕЙ PICHIA PINUS В СТАЦИОНАРНОЙ И ЛОГАРИФМИЧЕСКОЙ ФАЗАХ РОСТА

Н. В. СИМОНЯН, Ц. М. АВАКЯН, Н. Л. ДЖАНПОЛАДЯН, Л. Г. СТЕПАНЯН

Изучались радиорезистентность и содержание эндогенных тиолов в активно пролиферирующих и покоящихся клетках гаплоидных и диплоидных дрожжей Pichia pinus. Показано, что уровень эндогенных тиолов выше в почкующихся клетках этих дрожжей, обладающих повышенной устойчивостью к рентгеновским лучам.

Ключевые слова: радиорезистентность, эндогенные тиолы.

Известно, что радиорезистентность клеток живых организмов зависит от того, в какой стадии клеточного цикла находятся клетки во время облучения. У дрожжевых клеток период повышенной устойчивости к ионизирующим излучениям, как было показано в работе Бима с сотр. [3], совпадает с появлением почек и продолжается, согласно Бернсу [4], с начала образования почки до достижения ею размера, равного примерно 1/3 материнской клетки.

Нами показано [1, 2], что почкующиеся клетки дрожжей Saccharomyces ellipsoideus, штамм Мегри 139-В, и Saccharomyces cerevisiae «дикого типа», отличающиеся повышенной радиорезистентностью, содержат больше эндогенных тиолов, чем более чувствительные непочкующиеся клетки. Клетки дрожжей Saccharomyces cerevisiae, несущие мутацию rad 51 и не отличающиеся по радиорезистентности в стационарной и логарифмической фазах роста, не различаются и по содержанию SH-групп. Одним из иных путей проверки представлений, связывающих повышенную радиорезистентность почкующихся клеток дрожжей с повышенным содержанием в них SH-групп, может служить определение содержания SH-групп, в активно пролиферирующих и покоящихся клетках дрожжей Pichia pinus, у которых нетипичная реакция на облучение (гаплоидные клетки резистентнее диплоидных), что и было проделано в данной работе.

Материал и методика. Объектами исследования служили гаплоидный и диплоидный штаммы дрожжей Pichia pinus, выращенные на агаризованном неохмеленном пивном сусле (4° Балл) при 30°. Концентрацию клеток и процент почкования определяли подсчетом в камере Горяева. Для определения радиочувствительности суспензию, содержащую $1—2 \cdot 10^6$ кл/мл, облучали рентгеновскими лучами на установке РУП 220/20 при напряжении на трубке 200 кВ, силе тока 15 мА, мощности дозы 2100 Р/мин, фокусном расстоянии 10 см и высевали на поверхность сусло-агара. Выживаемость определяли подсчетом макроколоний через 7—10 сут после высева, в течение которых успевали сформироваться колонии из всех клеток, не погибших вследствие облучения. Для определения инкубации по методике Седлака и Линдсея [5] дрожжи выращивали на сусло-агаре и высушивали на фильтровальной бумаге. Содержание тиолов в клетках относили к 100 мг сухой биомассы.

Результаты и обсуждение. Как известно, дрожжевые клетки в процессе развития проходят несколько хорошо различающихся фаз (рис. 1): фаза I—покоящаяся клетка, ядро без видимых изменений; фаза II—клетка с почкой, которая равна или меньше 1/3 величины материнской клетки, ядро без изменений или начинает готовиться к делению, перемещается по направлению к почке или изменяет форму; фаза III—почка приближается по размеру к материнской клетке, ядро делится, и дочернее ядро перемещается в почку; фаза IV представлена еще не разошедшимися материнской и дочерней клетками с полностью обособившимися ядрами. На рис. 2 представлены кривые содержания в культуре различного типа почкующихся клеток гаплоидного и диплоидного штаммов Pichia pinus в зависимости от времени инкубации на питательной среде.

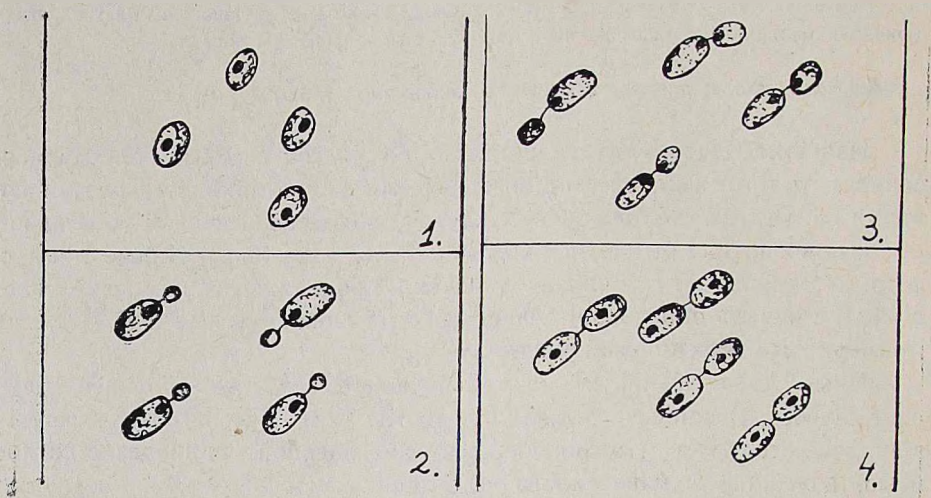

Рис. 1. Фазы роста культуры дрожжей.

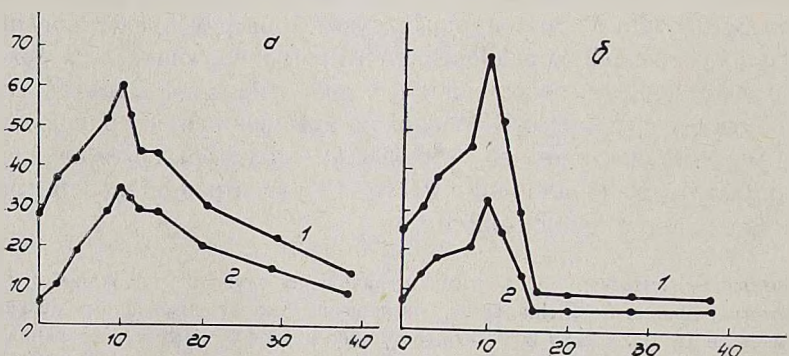

Рис. 2. Кривые содержания в культуре различного типа почкующихся клеток гаплоидных (а) и диплоидных (б) дрожжей Pichia pinus в зависимости от времени инкубации. 1—кривая содержания клеток, находящихся в фазах II—IV; 2—кривая содержания клеток, находящихся в фазе II. По оси абсцисс—время инкубации, ч; по оси ординат—содержание почкующихся клеток, %.

Кривые зависимости содержания клеток, находящихся в фазе II (кривые 2) и в фазах II—IV (кривые 1), от времени инкубации показывают, что максимальное содержание клеток, находящихся как в фазе II, так и в фазах II—IV, приходится примерно на 10 ч инкубации.

Кривые выживания клеток 4-часовой, 10-часовой и 5-суточной культур гаплоидного и диплоидного штаммов Pichia pinus приведены на рис. 3. Наибольшей резистентностью обладают клетки 10-часовой культуры, наименьшей—5-суточной. 10-часовая культура содержит наибольшее количество клеток с мелкими и крупными почками, 4-часовая культура как по содержанию тех и других почкующихся клеток, так и по радиорезистентности занимает промежуточное положение между 10-часовой и 5-суточной. Это характерно как для гаплоидных, так и для диплоидных дрожжей.

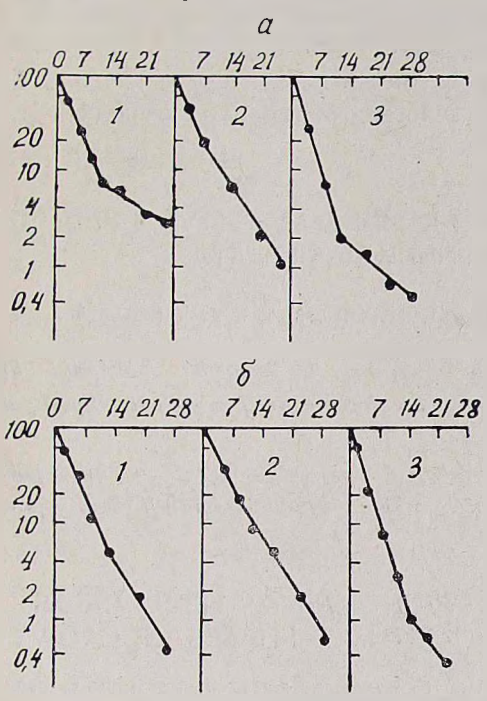

Рис. 3. Кривые выживания гаплоидных (а) и диплоидных (б) дрожжей Pichia pinus. 1. 4-часовая культура, 2. 10-часовая культура, 3. 5-суточная культура. По оси абсцисс—доза облучения, крад; по оси ординат—выживаемость, %.

Для проверки представлений, связывающих повышенную радиорезистентность почкующихся клеток с более высоким уровнем содержания эндогенных тиоловых соединений, мы определили содержание SH-групп в клетках этих культур (табл.).

Из данных таблицы следует, что клетки 10-часовой культуры гаплоидного и диплоидного штаммов, обладающие повышенной радиорезистентностью и состоящие в основном из почкующихся клеток, содержат больше эндогенных тиолов, чем менее радиорезистентные клетки 5-суточных культур, состоящие в основном из покоящихся клеток. Клетки 4-часовой культуры, занимающие промежуточное положение как по радиорезистентности, так и по содержанию почкующихся клеток, содержат больше эндогенных тиолов, чем клетки 5-суточной культуры, и меньше, чем клетки 10-часовой.

Таблица

Содержание SH-групп в клетках дрожжей Pichia pinus различного возраста, ммоль/100 мг

Штаммы	Возраст культуры		
	5-суточная	4-часовая	10-часовая
МН4	1,06	1,26	1,37
МН4-Д	0,98	1,12	1,23

Примечание: ошибка в определении SH-групп не превышала 3%.

Полученные результаты хорошо согласуются с данными, полученными на диплоидных дрожжах Saccharomyces ellipsoideus, штамм Мегри 139-В, и гаплоидных и диплоидных дрожжей Saccharomyces cerevisiae разных генотипов и свидетельствуют в пользу представлений, связывающих повышенную радиорезистентность почкующихся клеток с более высоким уровнем содержания эндогенных тиоловых соединений.

Ереванский физический институт ГКАЭ

Поступило 8.VII 1982 г.

PICHIA PINUS ԽՄՈՐԱՍՆԿՆԵՐԻ ՌԱԴԻՈԶԳԱՅՆՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՃՄԱՆ ՍՏԱՑԻՈՆԱՐ ԵՎ ԼՈԳԱՐԻԹՄԱԿԱՆ ՓԱԶԱՆԵՐՈՒՄ

Ն. Վ. ՍԻՄՈՆՅԱՆ, Ց. Մ. ԱՎԱԳՅԱՆ, Ն. Լ. ՋԱՆՓՈԼԱԴՅԱՆ, Լ. Գ. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է Pichia pinus *դիպլոիդ և հապլոիդ խմորասնկերի բողբոջվող և չբողբոջվող բջիջների ռադիոզգայնությունը և նրանցում* SH-*խմբերի պարունակությունը։*

Ցույց է տրվել, որ էնդոգեն տիոլների մակարդակն ավելի բարձր է խմորասնկերի բողբոջվող բջիջներում, որոնք ռենտգենյան ճառագայթների նկատմամբ մեծ կայունություն ունեն։

THE RADIOSENSITIVITY OF *PICHIA PINUS* YEAST CELLS IN THE STATIONARY AND LOGARITHMIC PHASES OF GROWTH

N. V. SIMONIAN, Ts. M. AVAKIAN, N. L. JANPOLADIAN, L. G. STEPANIAN

Data are presented on the content of endogenous thiols and radioresistance of cells of haploid and diploid yeast culture *Pichia pinus* of dtfferent budding cell content. Yeast cultures, having a higher content of budding cells, were shown to contain a larger number of endogenous thiols and to be more radioresistant than those having a smaller amount of budding cells.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Симонян Н. В., Авакян Ц. М., Джанполадян Н. Л.* Радиобиология, *18*, 1, 32—35, 1978.
2. *Симонян Н. В., Джанполадян Н. Л., Степанян Л. Г.* Радиобиология, *20*, 1, 123—126, 1980.