

Биол. журн. Армении, 3-4 (58), 2006

УДК 591.1.05

ВЛИЯНИЕ РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА НАКОПЛЕНИЕ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ У ДРОЖЖЕЙ *CANDIDA GUILLIERMONDII* HP-4

А.М. КАРАПЕТЯН, А.Х. АГАДЖАНЫАН, А.А. АГАДЖАНИЯН, Л.Г. АНАНЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии, 375049

Исследовали влияние рентгеновских лучей на накопление свободных аминокислот у дрожжей *Candida guilliermondii* HP-4, выращенных в разных средах. Выявлено, что в облученных клетках происходит накопление аргинина, глутамата, валина, лейцина и лизина. В необлученных клетках витамины E, C, их смесь - (E+C), KNO₃ уменьшают уровень свободных аминокислот, а в облученных клетках - наоборот, увеличивают.

Ուսումնասիրվել է ռենտգենյան ճառագայթների ազդեցությունը տարբեր սննդամիջավայրերում աճեցված *Candida guilliermondii* HP-4 խմորասնկային բջիջներում: Պարզվել է, որ ճառագայթված բջիջներում տեղի է ունենում արգինին, գլուտամատ, վալին, լեյցին և լիզին ամինաթթուների կուտակում: Չճառագայթված բջիջներում վիտամիններ E, C և նրանց խառնուրդը ու KNO₃ նվազեցնում են ազատ ամինաթթուների քանակությունը, իսկ ճառագայթված բջիջներում՝ ավելացնում:

The influence of X-rays on accumulation of free aminoacids of yeast *Candida guilliermondii* HP-4, which were grown in different environment, has been investigated. In radiated yeast cells the content of arginine, glutamate, valine, leucine, lysin increases in comparison with non-radiated cells. Vitamins E, C, their mixture (E+C), KNO₃ decrease the content of free aminoacids in non-radiated cells and in radiated cells- opposite there is the increase of their concentration.

Аминокислоты - дрожжи - ионизирующее облучение

Значение аминокислот для организма в первую очередь определяется тем, что они используются для синтеза белков, метаболизм которых занимает особое место в обмене веществ между организмом и внешней средой. Объясняется это тем, что белки входят во все структурные компоненты клеток, тканей и органов человека и животных, осуществляют различные функции, необходимые для нормальной жизнедеятельности клеток. Именно обмен аминокислот осуществляет взаимосвязь многообразных химических превращений в живом организме.

Однако содержание свободных аминокислот в зависимости от внешних факторов подвержено изменениям [3]. В нашей лаборатории в последние годы было показано, что в проростках гороха, подвергнутых солевому стрессу, наблюдается высокое содержание аминокислот [1]. Доказано, что синтез аминокислот и белков после облучения растений, даже при очень больших дозах, не подавляется, а наоборот, происходит накопление аминокислот, а

также нуклеотидов и РНК, поскольку РНК является непосредственным участником синтеза белков.

Целью настоящей работы является изучение влияния рентгеновских лучей на накопление свободных аминокислот у дрожжей *S. guilliermondii* НР-4, выращенных в разных питательных средах.

Материал и методика. Объектом исследования служили дрожжи *S. guilliermondii* НР-4. Подготовку посевного материала осуществляли по следующей схеме: музейная культура → двухсуточная культура на 2%-ном сусло-агаре → культура, выращенная в жидкой синтетической среде. Состав жидкой питательной синтетической среды, г: глюкоза - 10, KH_2PO_4 - 1.23, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0.625, NaCl - 0.125, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 3.12, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - 0.125 на 1 л водопроводной воды. Среду распределяли по 100 мл в литровые конические колбы и подвергали стерилизации под давлением 0.5 атм. в течение 20 мин. К стерильной среде добавляли простерилизованный раствор биотина в расчете 0.8 мг на каждые 100 мл., а также, в зависимости от опыта, добавляли растворы витаминов Е, С, их смеси, KNO_3 / 10мг/10мл/, 3%-ные экстракты тысячелистника, полыни горькой и пустырника в расчете 3мл на каждые 100мл. Инкубирование проводили в течение 20-22 ч при интенсивном взбалтывании и температуре 30°-32°. Подготовленную к опыту культуру центрифугировали, промывали, суспендировали в воде - 12 мл, оттуда брали 1 мл, доводили до 50 мл дистиллированной водой и нефелометрировали. Исходя из показаний ФЭК-а, по стандартной кривой определяли количество дрожжей. Экстракцию свободных аминокислот, их хроматографирование, количественное определение проводили по Блюменкратцу и Лоран [4, 5].

Облучение дрожжей проводили на рентгеновской установке ИРИС-6, ($\lambda = 0.78 \times 10^{-8}$ см, $U = 25$ кВ, $I = 15$ мА, время экспозиции - 30 мин).

Статистическую обработку данных проводили по Вознесенскому [2], число проб в каждом варианте 5.

Результаты и обсуждение. В первой серии экспериментов мы исследовали состав свободных аминокислот в клетках необлученных дрожжей, выращенных в разных питательных средах. Результаты этих исследований представлены в табл. 1., а результаты изучения влияния рентгеновского облучения на накопление свободных аминокислот - в табл. 2.

Как показывают полученные данные, по сравнению с интактными дрожжевыми клетками, в облученных клетках в синтетической питательной среде происходит накопление аминокислот, в частности аргинина, глутамата, валина, лейцина и лизина, т. е. аминокислот, которые по своей питательной ценности составляют группу хороших источников азота. Можно предположить, что увеличение количества свободных аминокислот происходит за счет усиления катаболизма белков при облучении клеток.

При наличии в инкубационной среде витамина Е, С, а также смеси витаминов (Е+С), KNO_3 происходит уменьшение уровня свободных аминокислот, что, по всей вероятности, является результатом стимулирования метаболических процессов в дрожжевых клетках под действием витаминов. Это можно объяснить антиоксидантными свойствами этих витаминов.

Из использованных лекарственных растений только полынь горькая усиливает накопление свободных аминокислот, а в клетках, подвергнутых рентгеновскому облучению, наоборот, экстракт этого растения снижает их содержание. Экстракт тысячелистника в облученных клетках почти в 2 раза увеличивает их количество по сравнению с контролем. KNO_3 также стимулирует накопление аминокислот в облученных клетках. И, возможно,

Таблица 1. Аминокислотный состав интактных дрожжевых клеток, выращенных в разных средах, мкмоль / г свежей ткани, n=5

Среда выращивания	Содержание свободных аминокислот в клетках интактных дрожжей								
	аргинин	глутамат	аланин	тирозин	валин	метионин	фенилаланин	лейцин	лизин
Контроль	0,28±0.01	0,2±0.01	0,18±0.01	0,68±0.03	0,7±0.03	0,72±0.03	0,4±0.03	0,21±0.01	0,4±0.03
Экстракт пустырника	0,35±0.02	0,15±0.01	0,21±0.01	0,62±0.03	0,61±0.03	0,59±0.03	0,3±0.01	0,13±0.01	0,49±0.03
Экстракт полыни горькой	0,46±0.03	0,32±0.01	0,26±0.01	1,03±0.04	0,6±0.03	0,61±0.03	0,48±0.03	0,24±0.01	0,5±0.03
Экстракт тысячелистника	0,34±0.01	0,3±0.01	0,3±0.02	0,63±0.03	0,4±0.02	0,42±0.02	0,3±0.01	0,13±0.01	0,23±0.01
Витамин Е	0,09± 0.01	0,05±0.001	0,11±0.001	0,3±0.01	0,12±0.01	0,22±0.01	0,12±0.01	-	0,115±0.01
Витамин С	0,26±0.01	0,33±0.01	0,54±0.01	0,41±0.01	0,3±0.01	0,64±0.01	0,21±0.01	-	0,153±0.01
Витамины Е+С	0,115±0.01	0,075±0.01	0,09± 0.001	0,81± 0.04	1,02± 0.04	1,02±0.04	0,18±0.01	-	0,12±0.01
KNO ₃	0,23±0.01	0,15± 0.01	0,34± 0.02	0, 4± 0.03	0,28±0.02	0,27±0.02	0,15±0.01	0,06±0.001	0,11±0.01

Таблица 2. Аминокислотный состав облученных дрожжевых клеток, выращенных в разных средах, мкмоль / г свежей ткани, n=5

Среда выращивания	Содержание свободных аминокислот в клетках облученных дрожжей								
	аргинин	глутамат	аланин	тирозин	валин	метионин	фенилаланин	лейцин	лизин
Контроль	0,48±0.03	0,31±0.01	0,18±0.01	0,60±0.03	0,78±0.04	0,8±0.04	0,165±0.01	0,13±0.005	0,23±0.04
Экстракт пустырника	0,46±0.03	0,44±0.03	0,255±0.01	0,62±0.03	0,63±0.03	0,6±0.03	0,13±0.01	0,2±0.01	0,49±0.03
Экстракт полыни горькой	0,26±0.01	0,14±0.01	0,085±0.01	-	0,4±0.03	0,38±0.03	0,06±0.01	0,06±0.01	0,16±0.01
Экстракт тысячелистника	0,92±0.04	0,6±0.03	0,34±0.01	0,83±0.04	1,21±0.05	1,21±0.05	0,36±0.01	0,26±0.01	0,45±0.02
Витамин Е	0,69±0.03	0,44±0.03	0,21±0.01	0,58±0.03	0,64±0.03	0,62±0.03	0,24±0.01	0,2±0.01	0,22±0.01
Витамин С	0,345±0.02	0,27±0.01	0,16±0.01	0,64±0.03	0,81±0.04	0,76±0.04	0,06±0.001	0,03±0.001	0,230.01
Витамины Е+С	0,23± 0.01	0,14±0.01	0,09±0.001	-	-	-	0,07±0.005	0,05±0.005	0,15±0.01
KNO ₃	0,87±0.04	0,6± 0.03	0,255±0.01	1,04±0.05	0,76±0.04	0,82±0.04	0,48±0.02	0,26±0.01	0,46±0.01

при стимулировании метаболических процессов в первую очередь клетка использует пул свободных аминокислот. А в облученных дрожжевых клетках, выращенных в питательных средах, содержащих вышеуказанные витамины, уровень свободных аминокислот повышается.

Таким образом, в дрожжевых клетках наибольшее накопление отмечается у аргинина, тирозина, валина, метионина, на втором месте - лизин и глутамат, а лейцин, аланин и фенилаланин накапливаются в очень незначительных количествах. Кроме того, в облученных клетках, выращенных в среде со смесью витаминов (E+C), отсутствуют аминокислоты тирозин, валин, метионин, что не наблюдается в остальных случаях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян А.Х., Молаи Рад М.Б., Гукасян Дж.Г., Агаджанян А.А. Биолог. журн. Армении, 1-2, 53, 2001.
2. Вознесенский В.Л. Первичная обработка экспериментальных данных. Л., 1969.
3. Савицкая Н.Н. Научн. докл. Высш. Шк. Биолог. науки, 2, 1976.
4. Blumenkatz N. Clin. Biochem. 13, 177, 1980.
5. Llsitzky S., Laurent S. Bull. Soc. Chem. Biol., 1137, 1955.

Поступила 03.VII.2006