

Р. Д. ГАЛЬЦОВА, М. Н. МЕЙСЕЛЬ и Л. А. СЕЛИВЕРСТОВА

ИЗМЕНЕНИЕ В СТЕРИНОВОМ ОБМЕНЕ ДРОЖЖЕВЫХ ОРГАНИЗМОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ РЕНТГЕНОВСКИХ ЛУЧЕЙ

(Представлено академиком В. А. Энгельгардтом 17 VII 1954)

В настоящее время можно считать твердо установленным, что различные функциональные структуры и биохимические системы живых организмов по-разному повреждаются ионизирующими излучениями. У микроорганизмов и клеток высших организмов наиболее чувствительной к излучениям является функция деления, более устойчивой — функция роста и еще более устойчивыми — дыхание и брожение. Из комплекса процессов обмена веществ наиболее поврежденным следует считать фосфорный и особенно нуклеиновый обмен.

Нам удалось обнаружить существенные сдвиги в стериновом обмене микроорганизмов, наступающие после облучения даже сравнительно небольшими дозами рентгеновских лучей.

Объектом нашего исследования была чистая культура дрожжевых организмов *Saccharomyces cerevisiae*, которая подвергалась облучению в отпрессованном состоянии в стерильных условиях. Облучение проводилось рентгеновской трубкой Т-200 без фильтров. Условия облучения: напряжение 160 кв, сила тока 5 ма, мощность дозы 800 г в мин. Дрожжевые суспензии получали от 2000 до 100 000 г. После облучения дрожжи рассеивались густой суспензией на плотную сусло-агаровую питательную среду и подращивались в течение 1—6 суток. Контролем служила суспензия необлученных дрожжей, которая рассеивалась таким же способом. Количественное определение стеринов, представленных у дрожжей главным образом эргостерином, производилось по методу Либерман — Бурхардта, видоизмененному Н. И. Проскуряковым (1).

Непосредственно после облучения сколько-нибудь заметных сдвигов в содержании эргостерина в дрожжах мы не наблюдали. При подращивании облученных дрожжей в них отмечалось значительное накопление эргостерина, тем больше, чем выше была доза облучения. Уже после дозы в 2000 г мы получали устойчивое повышение содержания эргостерина на 8% по сравнению с контрольной культурой. После дозы в 2500 г это превышение составляло 15%, после 5000 г — 30% и после 80 000 г — свыше 200% (табл. 1).

Наиболее резкое различие в содержании эргостерина между облученными и контрольными культурами наблюдалось через 24—48 час. подращивания. При увеличении длительности подращивания это различие несколько уменьшалось, в то время как абсолютное количество эргостерина возрастало как в облученных, так и в контрольных дрожжевых культурах.

В абсолютном количественном выражении содержание эргостерина в облученных и подращиваемых дрожжах достигало весьма значительных величин. Так, если через сутки подращивания содержание эргостерина в необлученных дрожжах обычно не превышало 1% (на сухой вес), то в облученных оно достигало 2,5 и даже 2,75%. На третьи сутки

Таблица 1

Влияние рентгеновского облучения на содержание эргостерина в последующих генерациях дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (содержание эргостерина в %)

Доза в тыс. г	Контрольные необлученные культуры						Облученные культуры после подрашивания						Прирост в %					
	Возраст в сутках																	
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
2	1,00	1,07	1,14	1,37	1,52	—	1,08	1,09	1,22	1,47	1,63	—	8	1	7	4	7	—
2,5	0,93	1,22	1,33	1,45	1,55	—	1,07	1,36	1,49	1,59	1,80	—	15	11	10	9	9	—
5	0,89	1,09	1,15	1,28	1,45	—	1,14	1,48	1,47	1,64	1,69	—	30	36	28	28	10	—
10	0,83	1,08	1,40	1,57	1,85	1,88	1,14	1,41	1,84	1,97	2,13	2,00	37	31	31	25	15	6
20	0,89	1,01	1,40	1,62	1,62	1,76	1,44	1,56	1,88	2,13	2,26	2,17	62	54	34	32	31	23
30	0,91	1,24	1,54	1,69	1,86	—	1,53	1,70	2,05	2,61	2,85	—	68	54	53	37	33	—
40	0,79	1,01	1,17	1,55	1,59	1,59	1,58	1,52	2,10	2,62	2,88	2,88	99	79	79	69	81	81
50	1,07	1,08	1,17	1,54	1,68	1,68	2,16	2,13	2,80	2,84	2,85	3,17	102	97	93	84	75	89
60	0,86	0,99	1,45	1,58	1,64	1,84	2,51	2,63	3,35	3,58	3,13	3,52	151	163	157	126	90	91
70	0,89	—	1,10	1,16	1,21	—	2,31	—	2,74	2,90	2,85	—	160	—	150	150	136	—
80	0,77	0,94	1,04	1,24	1,25	—	2,37	2,44	2,60	2,65	2,65	—	211	155	150	114	112	—
90	0,98	1,19	1,44	1,56	1,69	—	2,75	2,85	2,90	2,94	3,40	—	181	140	100	89	101	—
100	0,90	1,17	1,44	1,71	1,93	—	2,50	3,14	3,72	4,44	5,86	—	177	168	158	150	202	—

подрашивания количество эргостерина в облученных дрожжах возрастало до 3,79%, на четвертые — 4,44% и на пятые — 5,86% (доза 100 000 г).

Проведенные одновременно с определением содержания эргостерина морфологические и общезфизиологические исследования облученных и подброшенных на сусло-агаре дрожжей показали, что при дозах порядка 2—10 тыс. г сколько-нибудь существенных изменений в морфологии и структуре клеток не происходит. Может быть отмечено лишь небольшое увеличение жировых и липоидных включений. При дозах рентгеновских лучей порядка 20—30 тыс. г в культурах появляются крупные шаровидные клетки, сильно вакуолизированные и содержащие многочисленные липоидные гранулы. При дальнейшем увеличении дозы возрастает количество этих крупных шаровидных клеток и увеличивается их ожирение.

После облучения большими дозами (80—100 тыс. г) почти все клетки приобретают вид крупных, раздутых шаровидных образований с ненормальной вакуолизированной и богатой липоидными включениями протоплазмой. В физиологии дрожжей после их облучения также наблюдается ряд более или менее значительных отклонений. Скорость размножения облученных дрожжевых клеток снижается. Уже после 50—100 г отмечается кратковременное угнетение размножения (на 10—15%), выявляемое через 4 часа подрашивания, сглаживающееся через 24 часа. После 5000 г снижение скорости размножения клеток через 4 часа достигает 30% и сохраняется в значительно меньшем проценте и через 24 часа подрашивания (10%). С увеличением дозы облучения угнетение размножения возрастает: при 50—60 тыс. г нарастание дрожжевой массы снижается на 50%.

Менее значительно изменяются у облученных и подрашиваемых дрожжей интенсивность дыхания и брожения (табл. 2). Дозы до 40000 г не оказывают заметного влияния на эти функции дрожжевых клеток. При дальнейшем повышении дозы наблюдается заметная активизация интенсивности поглощения культурами кислорода, а затем некоторое снижение выделения углекислого газа. С возрастом у облученных дрожжевых куль-

тур обнаруживается отчетливое снижение интенсивности брожения при сохраненном нормальном уровне поглощения кислорода.

Таким образом, не удается установить сколько-нибудь точной корреляции между процессами размножения, дыхания, брожения, с одной стороны, и накоплением в дрожжевых клетках эргостерина, с другой. Степень угнетения этих процессов не пропорциональна величине нарастания в клетках стерина. Однако не подлежит сомнению, что обнаруженные нами под влиянием рентгеновских лучей изменения в стериновом обмене дрожжей указывают на существенные сдвиги в окислительно-восстановительном режиме облученной дрожжевой клетки. Известно, что в условиях повышенной окислительной активности в дрожжевых клетках накапливается значительное количество резервного эргостерина, повидимому, не входящего в состав постоянных структур протопласта. Этот эргостерин используется при брожении и энергичном размножении клеток.

По данным Т. А. Таусон (², ³), образование эргостерина сопряжено с окислительными процессами в клетке; биосинтез этого соединения, очевидно, происходит в результате окислительно-восстановительной реакции, в которой вещество, конденсирующееся в молекулу эргостерина, является акцептором водорода. Образование эргостерина нередко сопровождается процессы распада, диссимилиации и связано, надо полагать, с детоксикацией образующихся при этом промежуточных продуктов. Неустойчивость протопласта облученных клеток, повышенное образование в них окисляющихся продуктов распада вызывает компенсаторно синтез эргостерина, регулирующий окислительно-восстановительные условия в клетке. Очевидно, даже усиленное образование эргостерина не может полностью отрегулировать нарушения в окислительно-восстановительном режиме облученной клетки, что явствует из полученных нами данных по изменениям в дыхании и брожении облученных культур дрожжей (табл. 2).

Таблица 2

Влияние рентгеновских лучей на энергию дыхания и брожения последующих генераций *Saccharomyces cerevisiae*

Доза в тыс. г		Односуточная культура				Двухсуточная культура				Трёхсуточная культура			
		QCO ₂	в % к контр.	QO ₂	в % к контр.	QCO ₂	в % к контр.	QO ₂	в % к контр.	QCO ₂	в % к контр.	QO ₂	в % к контр.
40	Контр.	175	100	44	100	150	100	35	100	—	—	—	—
	Обл.	185	105	53	118	151	100	37	105	—	—	—	—
50	Контр.	164	100	41	100	135	100	41	100	161	100	36	100
	Обл.	182	111	50	121	117	87	42	102	134	83	37	103
60	Контр.	—	—	—	—	189	100	45	100	148	100	34	100
	Обл.	—	—	—	—	177	93	47	103	122	82	40	117
70	Контр.	143	100	44	100	—	—	—	—	128	100	39	100
	Обл.	132	92	41	92	—	—	—	—	86	67	39	100
100	Контр.	136	100	35	100	130	100	35	100	128	100	41	100
	Обл.	136	100	42	117	112	86	45	130	116	90	40	99

Примечание. QO₂ — количество кислорода в мм³, поглощенного за 1 час на 1 мг сухого вещества, QCO₂ — количество CO₂ в мм³, выделенной за 1 час на 1 мг сухого вещества.

Особого внимания заслуживает тот факт, что изменения в стериновом обмене дрожжей обнаруживаются уже при относительно малых дозах облучения; при этих дозах только в нуклеиновом обмене (в обмене дезоксирибонуклеиновой кислоты), считающемся наиболее повреждаемым, до настоящего времени были установлены отчетливые сдвиги. Обнаруженные нами факты указывают на то, что и стериновый обмен должен быть отнесен к категории легко повреждаемых ионизирующими излучениями.

Институт микробиологии
Академии наук СССР

Поступило
13 VII 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ Н. И. Проскуряков, Е. М. Попова, Ф. М. Осипов, Биохимия, 3, № 3, 397 (1938). ² Т. А. Таусон, Микробиология, 13, 261 (1944). ³ Т. А. Таусон, Распространение и условия накопления эргостерина (провитамина D₂) дрожжевыми и дрожжеподобными организмами, Диссертация, Инст. микробиологии АН СССР, М., 1945.