

**ДИНАМИКА МИТОХОНДРИАЛЬНОГО МЕМБРАННОГО
ПОТЕНЦИАЛА В КЛЕТОЧНОЙ ПОПУЛЯЦИИ
SACCHAROMYCES CEREVISIAE ПРИ ДЫХАНИИ
И БРОЖЕНИИ НА РАЗНЫХ ФАЗАХ РОСТА**

*Подольский Дмитрий Эдуардович, аспирант
Полесский государственный университет*

Введение. Клетки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* являются важнейшими объектами биотехнологических производств и растут на разных типах субстратов, из которых более предпочтительными для них являются глюкоза и фруктоза. Данные субстраты утилизируются клетками дрожжей в результате процесса брожения [2]. Однако, при переходе на неферментируемые субстраты, такие как глицерин, клетки *S. cerevisiae* способны переключать свой метаболизм на процесс дыхания. Помимо дыхания активные митохондрии дрожжей принимают участие в регуляции генерации активных форм кислорода, биосинтезе жирных кислот, кальциевой сигнализации клетки и других клеточных процессах. Выполнение данных функций митохондриями в клетке зависит от функционального состояния данных органелл, главным образом, от уровня мембранного потенциала митохондрий. Более того, функциональное состояние митохондрий имеет ключевое значение и в процессе брожения. В частности, как было показано, ингибиторы IV комплекса дыхательной цепи ингибируют и процесс брожения [1].

Цель работы – исследовать динамику мембранного потенциала митохондрий в клеточной популяции *Saccharomyces cerevisiae* при дыхании и брожении в зависимости от фазы роста клеток.

Материалы и методы. Для получения культур клеток дрожжей *S. cerevisiae* использовали жидкие питательные среды: 2% пептон, 1% экстракт дрожжей с содержанием 2% глицерина (субстрат дыхания) или 2% глюкозы (субстрат брожения). Визуализацию митохондрий и измерение мембранного потенциала проводили методом эпифлуоресцентной микроскопии с использованием катионного липофильного зонда родамина 123. На микрофотографиях интенсивность флуоресценции, соответствующую

уровню мембранного потенциала митохондрий клеток дрожжей *S. cerevisiae*, измеряли с использованием математического аппарата программы Fiji 1.51. Относительный уровень флуоресценции митохондриальной системы клеток дрожжей рассчитывали по формуле:

$$F_m = M_c - M_f,$$

где F_m – уровень флуоресценции митохондриальной системы клетки, отн. ед.;

M_c – среднее значение флуоресценции клетки;

M_f – среднее значение флуоресценции фона.

Результаты и выводы. При осуществлении процесса дыхания (субстрат глицерин) в период лаг-фазы роста клеточной культуры *S. cerevisiae* 66% клеток характеризовались уровнем мембранного потенциала, соответствующего интервалу значений флуоресценции от 0 до 5 отн. ед.; 29% клеток – 6–15 отн. ед.; 5% клеток – 16–30 отн. ед. (Рис. 1). В то же время в период логарифмической фазы наблюдали смещение количества клеток клеточной популяции в область более высоких значений уровня мембранного потенциала (50% клеток – 0–5 отн. ед.; 40% клеток – 6–15 отн. ед.; 10% клеток – 16–30 отн. ед.). На стационарной фазе уровень мембранного потенциала у 87% клеток соответствовал интенсивности флуоресценции 6–15 отн. ед., тогда как 11% клеток характеризовались интенсивностью флуоресценции 0–5 отн. ед., а 2% клеток – 16–30 отн. ед.

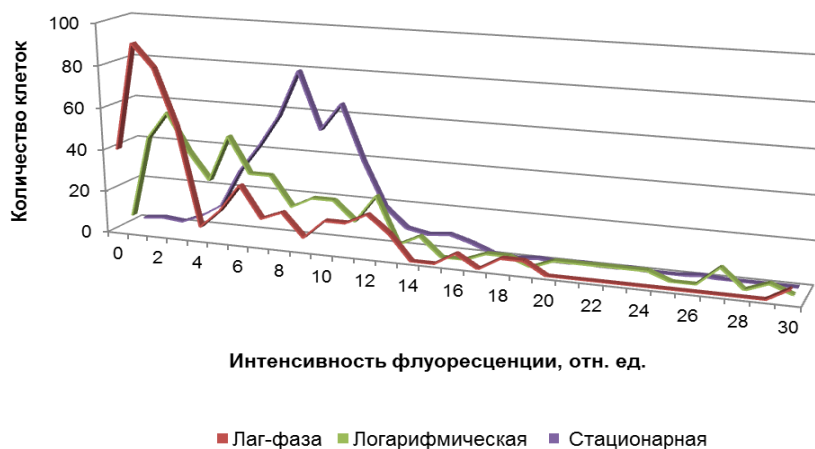


Рисунок 1 – Динамика мембранного потенциала митохондрий клеток при дыхании в клеточной популяции *S. cerevisiae* на разных фазах роста

При осуществлении процесса брожения (субстрат глюкоза) в течение всех фаз роста более чем 98% клеток характеризовались уровнем мембранного потенциала митохондрий, соответствующим интенсивности флуоресценции от 0 до 5 отн. ед. (Рис. 2). При этом в период лаг-фазы большая часть клеток культуры *S. cerevisiae* обладала уровнем мембранного потенциала, соответствующим 1 отн. ед. флуоресценции. Тогда как в период логарифмической и стационарной фазы роста большая часть клеток характеризовалась отсутствием мембранного потенциала митохондрий.

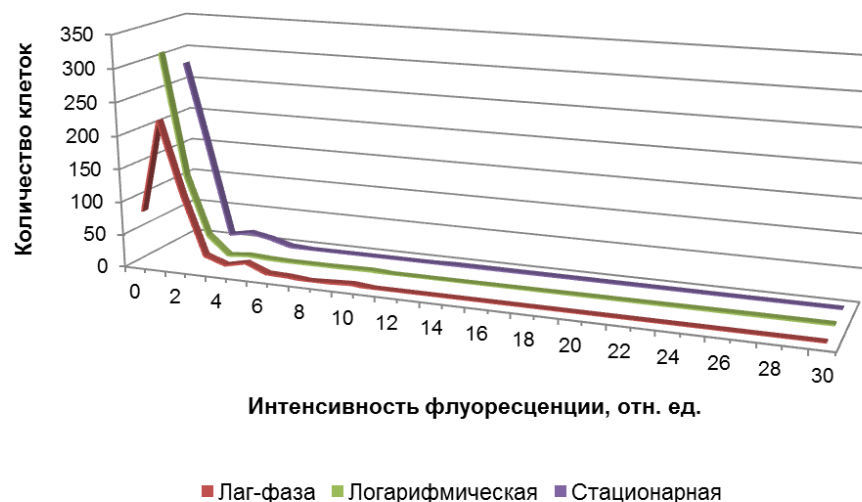


Рисунок 2 – Динамика мембранного потенциала митохондрий клеток при брожении в клеточной популяции *S. cerevisiae* на разных фазах роста

Таким образом, при культивировании клеток *S. cerevisiae* на субстрате дыхания глицерин на всех фазах роста наблюдали наличие мембранного потенциала митохондрий. При этом доля клеток в культуре, обладающая максимальным значением уровня мембранного потенциала, возрастала при переходе от одной фазы роста к другой, что, вероятно, обусловлено интенсификацией процесса дыхания. В то же время при культивировании на субстрате брожения глюкоза подавляющее большинство клеток *S. cerevisiae* характеризовались низким значением мембранного потенциала на лаг-фазе роста и его отсутствием у большинства клеток на логарифмической и стационарной фазах. Сохранение уровня мембранного потенциала на лаг-фазе роста культуры дрожжей при использовании в качестве субстрата глюкозы, вероятно, имеет адаптационное значение, позволяющее переключаться с одного типа энергетического метаболизма на другой при смене субстрата [3].

Список использованных источников

1. Clarkson, S.P., Large, P.J., Boulton, C.A., Bamforth, C.W. Synthesis of superoxide dismutase, catalase and other enzymes and oxygen and superoxide toxicity during changes in oxygen concentration in cultures of brewing yeast. *Yeast*, 7, 2001. P. 91–103.
2. D'amor T., Russel I., Stewart G. G. Sugar utilization by yeast during fermentation. *J. Ind. Microbiology*, 4, 1989. P. 316.
3. Lodolo, E. J., O'Connor-Cox, E. S. C., Axcell, B. C. Evidence of antimycininsensitive respiration in a commercial brewing yeast. *J. Inst. Brew*, 105, 1999. P. 35–43.