

ОБЪЕДИНЕННЫЙ
ИНСТИТУТ
ЯДЕРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ
ДУБНА

4238/83

19-83-318

15/8-83

А.В.Борейко, Е.А.Насонова, А.В.Глазунов

"БЫСТРОЕ" ПОСТРАДИАЦИОННОЕ
ВОССТАНОВЛЕНИЕ ДРОЖЖЕЙ:
ПОДАВЛЕНИЕ НА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ,
СОДЕРЖАЩИХ ПОВЫШЕННЫЕ КОНЦЕНТРАЦИИ
СОЛЕЙ КАЛИЯ

Направлено в журнал "Радиобиология"

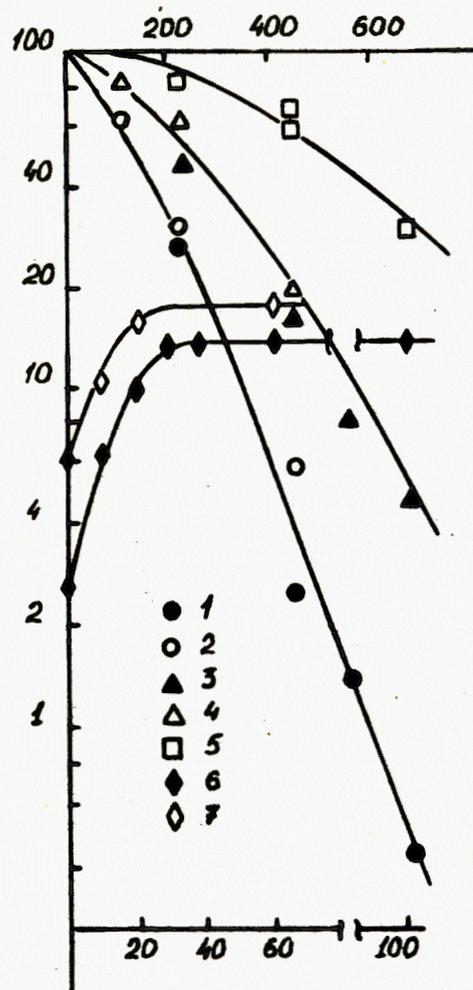
1983

Ранее установлено, что диплоидные дрожжи *Sacch. cerevisiae* способны к "быстрому" пострадиационному восстановлению жизнеспособности^{/1-3/}. Феномен проявляется в повышении выживаемости облученных клеток при их выдерживании в воде при 28°C перед высевом на питательную среду, содержащую ~1,5 М NaCl. Процесс завершается за 30 мин. Похожий процесс восстановления наблюдается и у клеток млекопитающих при их пострадиационной обработке гипертоническим раствором хлористого натрия: здесь также восстановление завершается за 30-40 мин^{/4-6/}. Это наводит на мысль о том, что в основе обоих явлений действует один и тот же универсальный механизм. Однако сравнительный анализ двух рассматриваемых процессов пострадиационного восстановления дрожжей и клеток млекопитающих обнаружил ряд существенных различий, поставивших под сомнение предположение об их одинаковой природе^{/3/}. Напомним, что указанный тип восстановления жизнеспособности клеток млекопитающих можно подавить гипертоническим раствором не только NaCl, но и других солей (KCl, MgCl₂), а также органических веществ /маннитол/^{/7/}. Это, по-видимому, свидетельствует о том, что первопричиной наблюдаемого феномена является осмотический шок клеток.

Цель данной работы - выяснить, является ли хлористый натрий специфическим ингибитором "быстрого" восстановления дрожжевых клеток, или последнее можно подавить и другими веществами, добавленными в питательную среду в повышенных концентрациях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали диплоидный штамм дрожжей *Sacch. cerevisiae* 28-73-1В^{/1/}. Перед облучением клетки выращивали на полноценной твердой питательной среде YEPD/пептон - 10 г/л, дрожжевой экстракт - 5 г/л, глюкоза - 20 г/л, агар-агар - 20 г/л/ в течение 4-5 суток при 28°C /стационарная фаза роста культуры/. Особенности подготовки клеток к облучению описаны в работе^{/1/}. Дрожжи облучали при 0°C γ -квантами ¹³⁷Cs /мощность дозы ~35 Гр/мин/. Высев клеток производили на твердую питательную среду YEPD и YEPD, содержащую ~1,5 М одного из веществ: KCl /среда А/, KNO₃ /Б/, CaCl₂ /В/, сорбитол /Г/. Выживаемость определяли путем подсчета макроколоний, вырастающих на твердой среде через 5-6 /YEPD, среды В, Г/ или 7-10 /среды А, Б/ суток роста при 28°C.



Кривые выживания диплоидных дрожжей *Sacch. cerevisiae* после облучения γ -квантами. 1,3,6 - высев на среду А; 2,4,7 - высев на среду Б; 5 - высев на среду YEPD. 1,2,5 - облучение при 0°C, высев сразу после облучения; 3,4 - облучение при 0°C, выдерживание в воде при 28°C в течение 1 ч; 6,7 - выживаемость в зависимости от времени выдерживания в воде при 28°C. По оси абсцисс - доза, Гр /верх/ и время, мин /низ/; по оси ординат - выживаемость, %.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В предварительных опытах было установлено, что на средах Б, В, Г жизнеспособность необлученных клеток составляет 100, а на среде А - 50-70% по сравнению с контрольными образцами, высеянными на среду YEPD.

На рисунке представлены кривые выживания диплоидных дрожжей *Sacch. cerevisiae* после облучения γ -квантами. Видно, что выживаемость клеток существенно возрастает, если их после облучения выдержать в воде в течение 1 ч при 28°C перед посевом на среду А /кривые 1,3/ или на среду Б /кривые 2,4/. Выживаемость на среде YEPD в данном случае еще выше /кривая 5/, что, по-видимому,

связано не с восстановлением, а с увеличением вероятности успешного деления облученных клеток /1/. Выживаемость по мере увеличения времени выдерживания клеток при 28°C перед посевом на среду А /кривая 6/ и среду Б /кривая 7/ быстро возрастает и приблизительно через 30 мин достигает максимального значения и далее не меняется.

Таким образом, KCl и KNO_3 , как и хлористый натрий, добавленные в питательную среду, ингибируют /полностью или частично/ процесс "быстрого" пострадиационного восстановления у диплоидных дрожжей. Отметим, что эффективность подавления "быстрого" восстановления эквимолярными концентрациями трех указанных веществ /~1,5 М/ примерно одинакова.

Иные результаты дали опыты по определению выживаемости облученных диплоидных дрожжей на средах В и Г /содержащих $CaCl_2$ и сорбитол соответственно/. Результаты представлены в таблице.

Таблица

Выживаемость облученных дрожжей на средах В и Г

Доза, Гр	Пострадиационные условия	Выживаемость, %		
		Среда В	Среда Г	YEPD
210	Немедленный высев	-	98+7	93+7
420		61+5	57+5	64+5
630		45+3	-	40+3
210	Выдерживание в воде при 28°C в течение 1 ч	-	95+7	-
420		62+5	58+5	-
630		44+3	-	-

Как видно, выживаемость клеток на обеих средах /В и Г/ не зависит от их пострадиационного выдерживания в воде при 28°C и совпадает с выживаемостью на полноценной среде YEPD, не содержащей добавок. Отметим, что выживаемость клеток, облученных в данных дозах /420 и 630 Гр/ и немедленно высеянных на среды А и Б, на порядок меньше соответствующей величины на средах В и Г /см. рисунок/. Интересно, что клетки, высеянные на среды, содержащие $CaCl_2$ и сорбитол, формируют колонии примерно в те же сроки, что и на среде YEPD, в отличие от сред, содержащих KCl и KNO_3 , где формирование колоний запаздывает на двое-трое суток.

Таким образом, $CaCl_2$ и сорбитол не влияют на эффективность "быстрого" пострадиационного восстановления дрожжей, в отличие от $NaCl$, KCl и KNO_3 . На основании представленных данных можно сделать следующие выводы. Во-первых, осмотический шок клеток, по-видимому, не есть причина подавления "быстрого" восстанов-

ления дрожжей на питательных средах, содержащих повышенные концентрации натриевых и калиевых солей, так как в противном случае трудно объяснить, почему это восстановление эффективно протекает на средах с хлористым кальцием и сорбитолом. Как уже отмечалось, рассматриваемый процесс восстановления клеток млекопитающих от летальных последствий облучения ингибируется гипертоническими растворами органических и неорганических веществ ^{17/}. Следовательно, представленные результаты свидетельствуют в пользу того, что в основе указанных типов пострадиационного восстановления дрожжей и клеток млекопитающих лежат различные механизмы. Можно предположить, что основную роль в подавлении "быстрого" восстановления дрожжей играют ионы Na^+ или K^+ . В пользу этого свидетельствует неэффективность CaCl_2 и сорбитола как ингибиторов "быстрого" восстановления.

ЛИТЕРАТУРА

1. Глазунов А.В., Капутьцевич Ю.Г. Радиобиология, 1982, т.22, вып.1, с.62-69.
2. Глазунов А.В., Капутьцевич Ю.Г. Радиобиология, 1982, т.22, вып.5, с.633-636.
3. Глазунов А.В., Капутьцевич Ю.Г. Радиобиология, 1982, т.23, вып.1, с.63-69.
4. Utsumi H., Elkind M.M. Radiat.Res., 1979, vol.77, No.2, p.346-360.
5. Raaphorst G.P., Azzam E.I. Radiat.Res., 1981, vol.86, No.1, p.52-66.
6. Pohlit W., Heyder I.R. Radiat.Res., 1981, vol.87, No.3, p.613-634.
7. Ross-Riveros P. Radiat.Res., 1980, vol.83, No.2, p.403.

Рукопись поступила в издательский отдел
17 мая 1983 года.

Борейко А.В., Насонова Е.А., Глазунов А.В. 19-83-318
"Быстрое" пострадиационное восстановление дрожжей:
подавление на питательных средах, содержащих повышенные
концентрации солей калия

Показано, что "быстрое" пострадиационное восстановление γ -облученных диплоидных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* подавляется на питательных средах, содержащих ~1,5 М KCl или KNO_3 . Эквимолярные концентрации CaCl_2 и сорбитола не сказываются на эффективности восстановления рассматриваемого типа. Проведен сравнительный анализ пострадиационного восстановления дрожжей и клеток млекопитающих. Выдвинуто предположение о решающей роли ионов Na^+ и K^+ в подавлении "быстрого" пострадиационного восстановления дрожжей.

Работа выполнена в Лаборатории ядерных проблем ОИЯИ.

Препринт Объединенного института ядерных исследований. Дубна 1983

Borejko A.V., Nasonova E.A., Glazunov A.V. 19-83-318
"Fast" Postradiative Recovery of Yeast:
Suppression on Cultural Medium Containing Elevated
 KCl Concentrations

It is shown that postradiative recovery of diploid yeast cells *Saccharomyces cerevisiae* is suppressed in cultural media containing 1.5 M KCl or KNO_3 . Equimolar concentrations of CaCl_2 and sorbitol do not effect the efficiency of this type of recovery. The comparative analysis of postradiative recovery of yeast and mammalian cells is performed. The hypothesis as to the leading part of Na^+ and K^+ ions when suppressing the "fast" postradiative recovery of yeast is proposed.

The investigation has been performed at the Laboratory of Nuclear Problems, JINR.

Preprint of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna 1983

Перевод О.С.Виноградовой.