

Изучение влияния различных концентраций перекиси водорода на активности антиоксидантных ферментов в процессе продолжительного культивирования дрожжей *Yarrowia lipolytica*

Научный руководитель – Дерябина Юлия Ивановна

Боброва Е.А.¹, Красникова А.М.², Секова В.Ю.³

1 - Московский политехнический университет, Москва, Россия, *E-mail: eckaterina.bobrova@icloud.com*; 2 - Московский политехнический университет, Москва, Россия, *E-mail: aalinek@icloud.com*; 3 - Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Факультет биотехнологии и промышленной экологии (БПЭ), Москва, Россия, *E-mail: beauveria606@gmail.com*

В настоящее время активные формы кислорода рассматриваются не только как повреждающие агенты, но и как важные сигнальные молекулы, играющие важную роль в общем антиоксидантном статусе клеток [1]. В частности, было показано, что делеция генов каталазы приводила к увеличению хронологического возраста культур *Saccharomyces cerevisiae* [3]. В представленной работе мы изучали воздействие перекиси водорода на хронологическое старение культур полиэкстремофильных дрожжей *Yarrowia lipolytica*. Данный биообъект широко применяется в промышленности в качестве штамма-продуцента, причём этот организм оказался эффективным в технологиях непрерывного культивирования [2]. Таким образом, задача поддержания высокой выживаемости и метаболической активности клеток *Y. lipolytica* в процессе длительного культивирования является крайне актуальной, так как позволит создавать новые и оптимизировать существующие технологии с использованием этого объекта.

В представленной работе изучалась активность ферментов первой линии защиты - супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы на разных стадиях роста после введении 10, 15 и 25 мМ перекиси водорода в логарифмической стадии роста клеток (18 ч). Далее образцы биомассы отбирали во временных точках 24 (поздняя логарифмическая стадия), 40 (ранняя стационарная стадия) и 120 (поздняя стационарная стадия роста). Из полученных образцов готовили экстракты, в которых затем измеряли активности СОД и каталазы.

Эксперимент показал, что без введения H_2O_2 максимальные значения как каталазы (мМ H_2O_2 / (мин × мг белка), так и СОД (У/мг белка) достигались через 40 часов роста, составляя 1518 и $21,3 \times 10^3$ соответственно. В логарифмической и поздней стационарных стадиях роста эти параметры отличались незначительно и составили 848 и 651 и $11,3 \times 10^3$ и $14,2 \times 10^3$ соответственно. Введение 10 мМ H_2O_2 привело к заметному повышению (до 1161) активности каталазы в логарифмической стадии, при этом в раннем стационаре активность оставалась на том же уровне и снижалась до 654 в позднем стационаре. Активность СОД при этом возросла до $14,3 \times 10^3$ в раннем стационаре и снижалась до $7,2 \times 10^3$ - в позднем. Внесение 15 мМ перекиси приводило к взрывному росту активности обоих ферментов (1557 и $26,0 \times 10^3$), после чего активность каталазы резко снижалась (до 800-850), а активность СОД оставалась высокой в начале стационара, после чего снижалась до $10,0 \times 10^3$. Похожая картина наблюдалась и при 25 мМ H_2O_2 . После взрывного роста активности каталазы (до 1337), она плавно снижалась до 1026 в раннем стационаре и затем - до 710 - в позднем. При этом в данном случае активности СОД были минимальными и составляли $10,3 \times 10^3$; $9,2 \times 10^3$ и $8,0 \times 10^3$ в логарифмической, ранней и поздней стационарной стадии роста соответственно, что может быть связано с явлением ингибирования субстратом.

Таким образом, введение различных концентраций перекиси водорода приводит к различным воздействиям на кинетику изменения активности антиоксидантных ферментов в процессе длительного культивирования.

Источники и литература

- 1) Buffenstein R., Edrey Y.H., Yang T., Mele J. The oxidative stress theory of aging: embattled or invincible? Insights from non-traditional model organisms // AGE. 2008. V. 30. P. 99–109.
- 2) Kubiak M., Borkowska M., Białas W., Korpys P., Celińska E. Feeding strategy impacts heterologous protein production in *Yarrowia lipolytica* fed-batch cultures — Insight into the role of osmolarity // Yeast. 2019. V. 36. No. 5. P. 305-318.
- 3) Mesquita A., Weinberger M., Silva A., Sampaio-Marques B., Almeida B., Leão C., Costa V., Rodrigues F., Burhans W.C., Ludovico P. Caloric restriction or catalase inactivation extends yeast chronological lifespan by inducing H₂O₂ and superoxide dismutase activity // Proc. Natl. Acad. Sci. 2010. V. 107. No. 34. P. 15123-15128.