

# Адаптивный ответ на окислительный стресс и устойчивость к холодовым воздействиям дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

И.П. Горячая

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

## Adaptive Response to Oxidative Stress and Resistance to Cold Exposures of *Saccharomyces cerevisiae* yeast

I.P. Goriachaya

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Способность дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* к адаптации и их ответ на холодовой и окислительный стресс представляют интерес для фармацевтической, медицинской, пищевой промышленности и для биотехнологий, связанных с ферментативными процессами. Целью данной работы было исследование способности клеток *S. cerevisiae* противостоять действию озона, как одной из активных форм кислорода, и влияния обработки клеток озоном на повреждение мембран при замораживании-отогреве. Реакцию клеток на озон регистрировали методом хемилюминесценции, повреждение мембран – методами флуоресцентной микроскопии и цитофлуориметрии с использованием флуоресцентного зонда K8-3010 («SETA BioMedicals», США).

Установлено, что по характеру реакции клеток *S. cerevisiae* на озон можно выделить три диапазона доз: низкие  $(1,3-4,2) \times 10^{-17}$  моль  $O_3$ /кл.; средние  $(4,2-24) \times 10^{-17}$  моль  $O_3$ /кл.; высокие – более  $30 \times 10^{-17}$  моль  $O_3$ /кл. Клетки *S. cerevisiae*, обработанные озоном в низких дозах (около  $10^{-17}$  моль  $O_3$ /кл.), лучше восстанавливают свои показатели деления и роста после замораживания-отогрева. Действие озона можно объяснить ответной реакцией живой системы на низкие дозы раздражителя, так называемым гормезисом. В диапазоне средних доз наблюдается обратимое торможение деления и роста клеток, при высоких дозах – апоптоз и некроз клеток.

Для объяснения отличий действия озона на клетки в разных дозах исследовали общую антиоксидантную активность клеток как показатель способности клеток противостоять влиянию активных форм кислорода.

В суспензию клеток вводили порции озона в дозе  $3 \times 10^{-17}$  моль/кл. После введения каждой порции регистрировалась вспышка хемилюминесценции. Амплитуда каждой вспышки не изменялась, пока суммарная доза введенного озона не достигала около  $10^{-16}$  моль/кл. При увеличении суммарной дозы озона выше  $1,62 \times 10^{-16}$  моль/кл. наблюдалось снижение амплитуды каждой последующей вспышки хемилюминесценции вплоть до полного исчезновения люминесцентного ответа клеток на озон.

Показано, что устойчивость клетки к действию озона проявляется при такой степени оксидативного стресса, при которой ресурсы системы антиоксидантной защиты не исчерпаны и клетка способна нейтрализовать избыточный индуктор оксидативного стресса.

Ability of *Saccharomyces cerevisiae* yeast to adaptation and their response to cold and oxidative stress is of interest for pharmaceutical, medical, food industries and biotechnologies associated with the enzymatic processing. The research aim was to study the ability of *S. cerevisiae* cells to resist the effect of ozone as one of reactive oxygen species as well as how treatment of cells with ozone affect membrane damage during freeze-thawing. Cell response to ozone was recorded by chemiluminescence method. Membrane damage was assessed by fluorescent microscopy and flow cytometry using fluorescent probe K8-3010 (SETA BioMedicals, USA).

We have revealed that by the response of *S. cerevisiae* cells to ozone could be divided to three dose ranges depending on the character of reactions: low doses  $(1.3-4.2) \times 10^{-17}$  mol  $O_3$ /cell, medium doses  $(4.2-24) \times 10^{-17}$  mol  $O_3$ /cell and high ones – more than  $30 \times 10^{-17}$  mol  $O_3$ /cell. In case if *S. cerevisiae* cells were treated with ozone in low doses (about  $10^{-17}$  mol  $O_3$ /cell) its division and growth after freeze-thawing were restored better. Ozone effect could be explained by the response of living system to low doses of irritant, what is referred to as 'hormesis'. Within the range of medium doses we observed a reversible inhibition in division and growth of cells, when high doses were applied the apoptosis and necrosis of cells were found.

To find out the differences in ozone effect on cells between different doses we investigated general antioxidant activity of cells as a measure of cell ability to resist the action of reactive oxygen species.

Cell suspensions were supplemented by ozone portions in dose of  $3 \times 10^{-17}$  mol/cell. After administration of each portion the burst of chemiluminescence was recorded. Amplitude of each burst was not changed until total dose of introduced ozone reached the value of about  $10^{-16}$  mol/cell. When the total dose of ozone was higher than  $1.62 \times 10^{-16}$  mol/cell we noted the decrease in amplitude of each following chemiluminescence burst until complete disappearance of luminescent cell response to ozone introduction.

We have shown that resistance of the cells to ozone effect was manifested at such degree of oxidative stress when the resources of antioxidant defence system were not exhausted and cells were able to neutralize an excessive inducer of oxidative stress.

