

РУХОВА АКТИВНІСТЬ ДРІЖДЖОВИХ КЛІТИН ЗА УМОВИ РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ МОНО- ТА ДИСАХАРИДІВ

В. С. Шапінська

здобувачка вищої освіти першого (бакалаврського) рівня, група БЮ-21,
навчально-науковий інститут будівництва та архітектури
Науковий керівник – д.б.н., професор О. О. Бедункова

*Національний університет водного господарства та природокористування,
м. Рівне, Україна*

Наведено результати спостережень за культурою дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* під впливом моно- та дисахаридів. Вивчено рух клітин дріжджів залежно від різних концентрацій вуглеводів. Виявлено концентрацію сахаридів для найоптимальнішого культивування та роботи дріжджів.

Ключові слова: дріжджі, сахариди, гліколіз, швидкість руху.

The results of observations of *Saccharomyces cerevisiae* yeast culture under the influence of mono- and disaccharides are given. The movement of yeast cells depending on different concentrations of carbohydrates was studied. The concentration of saccharides for the most optimal cultivation and work of yeast has been revealed.

Keywords: yeast, saccharides, glycolysis, speed of movement.

Дріжджі – це мікроорганізми з унікальними характеристикам та можливостям, що обумовлює їх широке застосування в різних галузях промисловості, наукових дослідженнях та передових біотехнологіях. Завдяки своїй еукаріотичній природі, короткому часу генерації, доступності та простоті використання, дріжджі стали зручним інструментом для досліджень фундаментальних процесів клітин. Унікальні властивості дріжджів дозволили отримати цінну інформацію щодо розподілу клітин, реплікації ДНК, експресії генів та функцій білків.

Дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*, відомі як пекарські дріжджі, є гетеротрофними організмами з товстою і жорсткою клітинною стінкою. Для клітин дріжджів характерний процес дихання за рахунок кисню, проте за його відсутності вони переходять на анаеробне дихання (гліколіз), при цьому джерелом енергії виступають цукри. Гліколіз впливає на кількість енергії, яку потім дріжджі використовують для руху. Побічними продуктами реакції гліколізу дріжджів є двоокис вуглецю та етиловий спирт [1].

В якості джерела енергії дріжджі використовують вуглеводні. Передусім, це моносахариди у вигляді гексоз. Дещо менше *Saccharomyces cerevisiae* можуть використовувати олігосахариди та полісахариди. Саме в таких випадках і відбувається перетворення енергії внаслідок гліколізу. У процесі гліколізу глюкоза здатна перетворюватися на піруват. Паралельно відбувається продукування і синтез АТФ (аденозинтрифосфату) та відновлення НАДН (нікотинамідаденіндинуклеотиду) [2].

Відомо, що коли ферментовані поживні речовини, такі як глюкоза, починають закінчуватися, експресія гліколітичних ферментів у клітинах дріжджів знижується. В складі гліколітичного регулятора різко падає рівень білка, що призводить до індукції цієї регуляції. Коли інтенсивність гліколізу зменшується, клітина переходить у стан спокою. Цікаво, що цей білок може зв'язуватися виключно з центрами зв'язування транскрипції нижніх ферментів. Верхні ферменти клітин дріжджів продовжують виробляти продукти реакцій надалі. Ця ситуація не є постійною, оскільки дріжджі здатні переробляти достатньо великі

кількості цукрів. Проте здебільшого все ж спостерігається уповільнення метаболізму дріжджів і руйнування їх клітинних мембран [3; 4].

Гліколіз дріжджів навіть дотепер, незважаючи на їх активне використання протягом століть, залишається вивченим не до кінця. За присутності великої кількості цукрів, дріжджові клітини перенасичуються, шукаючи при цьому інші джерела енергії. Одночасно, ферменти, що каталізують верхні гліколітичні потоки, продовжують працювати. До того ж, якщо перенасичені цукром клітини й надалі отримують глюкозу, вони переходять у незбалансований фізіологічний стан, за якого проміжні гліколітичні продукти продовжують накопичуватися, що призводить до зупинки руху, розвитку грибів та навіть загибелі дріжджових клітин [5].

Метою нашого дослідження було знайти таку концентрацію сахаридів, за якої дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* проявлятимуть найбільшу рухову активність.

Для досліджень були взяті моносахариди (глюкоза та фруктоза) та дисахарид (сахароза) з вихідною концентрацією 400 мг/мл у різних кратностях розведення з водою (1:1; 1:5; 1:10), до яких вводили культуру пресованих живих пекарських дріжджів т.м. «Чемпіон» за концентрації 1 г культури на 1 мл води. Перед введенням вуглеводнів було зафіксовано рух дріжджів без додаткового стимулювання. Для спостереження та фіксації руху клітин дріжджів використовували бінокулярний мікроскоп Microtron 400-M, окуляр-мікрометр марки ЛОМО АУ-12, секундомір.

Швидкість руху клітин розраховували за формулою:

$$V = l/t, \text{ ум. од./с} \quad (1)$$

де V – швидкість руху клітин дріжджів, ум. од./с; l – проміжок між поділками окуляр-мікрометра, який було взято для експерименту (ум.од.); t – час, за який клітина дріжджів долала проміжок.

Для кращого результату було проведено 5 спроб, за результатами яких визначали середнє значення:

$$V_{\text{сер}} = (V_1 + V_2 + \dots + V_n) / n, \quad (2)$$

де V_1, V_2, \dots, V_n – значення швидкості руху клітин у відповідній повторності експерименту, ум.од./с; n – кількість повторностей серії експерименту.

Помилку середньоарифметичного розраховували за t -критерієм Стьюдента [6].

Відстеження активності дріжджів (рис. 1) без впливу дії вуглеводнів виявило середні значення швидкості руху клітин $0,080 \pm 0,010$ ум.од./с. Зокрема, середній час за який клітина долала 1 поділку окуляр-мікрометра в цій серії експерименту становив $6,2 \pm 1,6$ с.

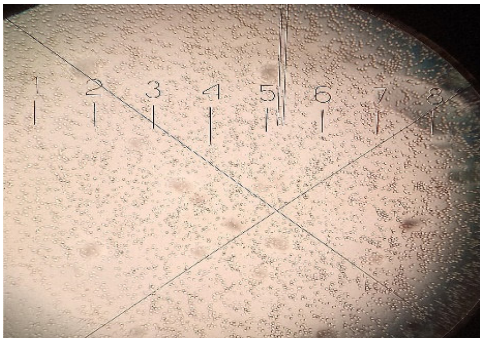


Рис. 1. Вигляд клітин *Saccharomyces cerevisiae* при розгляді в мікроскоп з окуляр-мікрометром, при загальному збільшенні 10×8 разів (фото автора)

У серії експериментів з глюкозою, за кратності розведення моносахариду з водою 1:1 середня швидкість руху клітин становила $0,780 \pm 0,015$ ум.од./с; 1:5 – $0,770 \pm 0,012$ ум.од./с; 1:10 – $0,095 \pm 0,004$ ум.од./с. У серії експериментів з фруктозою, за кратності розведення моносахариду з водою 1:1 середня швидкість руху клітин становила $0,176 \pm 0,011$ ум.од./с; 1:5 – $0,110 \pm 0,003$ ум.од./с; 1:10 – $0,240 \pm 0,010$ ум.од./с. У серії експериментів із сахарозою, за кратності розведення дисахариду з водою 1:1 середня швидкість руху клітин становила $0,076 \pm 0,010$ ум.од./с; 1:5 –

$0,060 \pm 0,005$ ум.од./с; 1:10 – $0,046 \pm 0,012$ ум.од./с (рис. 2).

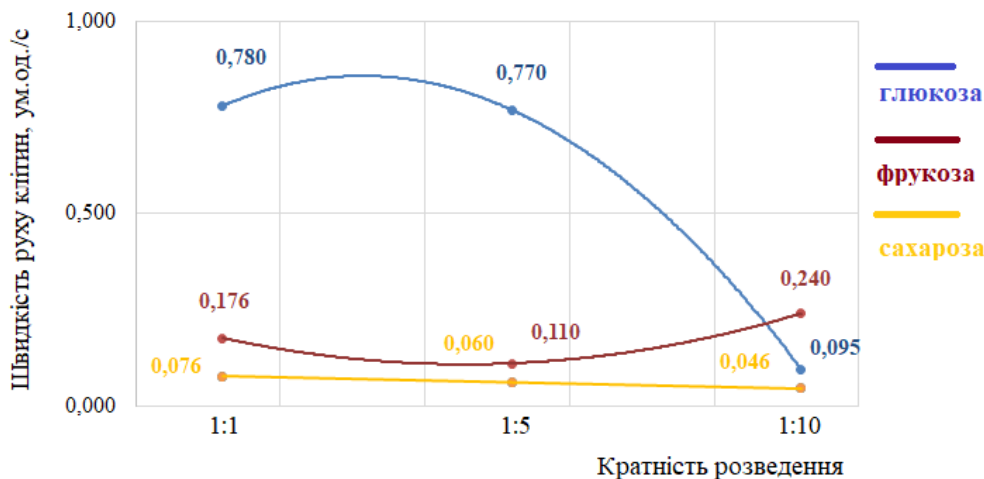


Рис. 2. Активність клітин *Saccharomyces cerevisiae* за умов різних концентрацій моно- та дисахаридів

Отриманий результат показує, що невелике додавання стимулятора дійсно прискорює життєдіяльність даних мікроорганізмів. Однак при подальшому збільшенні концентрацій розчину глюкози швидкість падає. Було помічено, що при різних концентраціях вуглеводів швидкість дріжджів постійно змінюється. В ході експерименту, реакції у клітинах або пришвидшувались, або сповільнювались. Рух клітин найбільш стимулювали високі концентрації фруктози. Швидкість руху дещо спадала при збільшенні концентрації сахарози. А от при високому вмісті розчину глюкози активність дріжджів дуже сильно уповільнювалася.

Гліколіз дріжджів як перший етап клітинного дихання є одним з найважливіших метаболічних процесів, який забезпечує клітину енергією [1–5]. Під час гліколізу відбувається розщеплення моносахаридів – у цьому випадку виробляється деяка кількість енергії в формі АТФ та НАДН, які клітина згодом використовуватиме як джерело енергії. У процесі гліколізу при надмірному надходженні сполук гексоз внутрішньоклітинні процеси можуть сповільнюватися [2]. Вони й надалі розщеплюють вуглеводи, ще більше наповнюючи клітину. Очевидно, що саме через це метаболізм клітин стає надто непередбачуваним. Результати наших досліджень продемонстрували, що в основному життєдіяльність дріжджів сповільнюється.

Висновок. Найкраще дріжджі працюють при середніх концентраціях глюкози – в основному при кратності розведення 1:5 та менше. При подальшому збільшенні концентрацій швидкість стрімко падає. Водночас при збільшенні вмісту фруктози швидкість зростала.

1. Barton N. H., Briggs D. E. G., Eisen J. A. Evolution. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2007. 833 p.
2. Park S., Kang S.-E., Kim S.-J., Kim J. Graphene-encapsulated yeast cells in harsh conditions. *Fungal Biology*. 2023. Vol. 127(10–11). P. 1389–1396.
3. Sun S., Gresham D. Cellular Quiescence in Budding. *Yeast*. 2020. Vol. 38(1). P. 1–27.
4. Kuroda K., Ueda M. Cell surface engineering of yeast for applications in white biotechnology. *Biotechnology Letters*. 2011. Vol. 33(1). P. 1–9.
5. Gosse B. Overall, Bas Teusink, Frank J. Bruggeman, Josephus Hulshof, Robert Planque. Understanding start-up problems in yeast glycolysis. *Mathematical Biosciences*. 2018. Vol. 299. P. 117–126.
6. Костюк В. О., Мількін І. В. Статистика. Харків : ХНУМГ ім. О. М. Бекетова, 2015. 166 с.