

УДК 60:620.3:663.123

© 2015

М.В. Таран

*Національний
університет біоресурсів
і природокористування
України*

** Науковий керівник —
доктор біологічних наук
М.Ф. Стародуб*

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ НАНОКОМПОЗИТІВ НА ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ ДРІЖДЖІВ НИЗОВОГО БРОДІННЯ SACCAROMYCES CEREVISIAE*

Мета. Дослідити вплив наноконкомпозитів на основі Saponite ($\text{Si}_{7.34}(\text{Al}_{0.66}\text{Mg}_6\text{O}_{20}((\text{OH})_4)$) виробництва IMV CAS #1319-41-1 (Nevada, США) на життєздатність і редуктазну активність мітохондрій пивних дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. **Методи.** Мікробіологічні, лабораторні, статистичні. **Результати.** Установлено, що наноконкомпозити стимулюють розвиток *S. cerevisiae* та діяльність мітохондріальних редуктаз у клітинах дріжджів. **Висновки.** За впливу наноконкомпозитів на основі сапонітів кількість клітин у культурі *S. cerevisiae* значно зростає. За даними МТТ-тесту, найбільший ефект порівняно з контролем виявлено в разі використання наноконкомпозитів Saponite-H⁺ та Nb-Sap-EtO за концентрації 0,5 мг/мл, які стимулюють діяльність мітохондріальних редуктаз у клітинах дріжджів.

Ключові слова: наноконкомпозити, дріжджі, життєздатність, мітохондрії, редуктазна активність, сапоніти.

Нанотехнологія є відносно молодого галуззю науки, яка стрімко ввійшла в наше життя і дуже інтенсивно розвивається. Наноматеріали отримали значну увагу завдяки комплексу їх особливих властивостей, зокрема, зважаючи на велику питому площу поверхні та високу реакційну активність [3, 4]. З бурхливим розвитком нанотехнологій були отримані наноматеріали різних форм і діаметрів, які використовують у виробництві продуктів і товарів [5, 9, 10].

З одного боку, уміле застосування наночастинок відкриває нові можливості у багатьох напрямках діяльності людини: створення надпотужних комп'ютерів, надміцних матеріалів, розробка високоефективних антибактеріальних засобів. Проте, з іншого боку, поспішне впровадження наночастинок у повсякденну життєдіяльність людини, беззаперечно, може нести загрозу здоров'ю. Тому науковий пошук має бути обов'язково спрямований на вивчення впливу наноматеріалів на біологічні об'єкти різних рівнів організації, зокрема на аналіз

стану субклітинного, клітинного, органного рівнів і всього організму [1].

Мета досліджень — вивчити прямий вплив досліджуваних нанопрепаратів у твердому стані на ріст і життєздатність клітин дріжджів. *S. cerevisiae* — еукаріотичний мікроорганізм. Це сфероподібні, жовто-зелені дріжджі, які зазвичай використовують у дослідженнях як «модельні організми». Їх великою перевагою є те, що вони одночасно є і одноклітинними та еукаріотичними організмами. Значна кількість генів і білків дріжджів є гомологами організму людини. Глибше їх вивчення є кроком до кращого розуміння генному людини. Ще однією перевагою дріжджів є їх швидкий ріст. На оптимальних середовищах подвоєння популяції дріжджів становить лише 90 хв [8], а їх колонії, як правило, видимі уже через 2–3 дні після перенесення на свіже середовище.

Матеріали та методи досліджень. У роботі досліджували вплив ряду наноконкомпозитів

на основі Saponite ($\text{Si}_{7,34}\text{Al}_{0,66}\text{Mg}_6\text{O}_{20}((\text{OH})_4)$) виробництва IMV CAS #1319-41-1 (Nevada, США), а саме: Saponite-H⁺; Nb-Sap-Cl і Nb-Sap-EtO. Визначали вплив перелічених нанокмполитів на рівень життєздатності та на редуктазну активність мітохондрій пивних дріжджів *S. cerevisiae*.

Мікроструктуру нанокмполитів визначали за допомогою сканувальної електронної мікроскопії. Зразки Saponite-H⁺ мали дещо трикутну форму, що відображає тетрагональну структуру їх будови. За умов розчинення вони агрегували у більшій просторовій формування, але залишилися пористими, з розміром пор близько 100 нм, що свідчить про велику площу їх активної поверхні. Зразки Nb-Sap-EtO трикутної форми, товщина — 20–30 нм. Нанокмполити Nb-Sap-Cl мали розміри понад 30 нм, але як і попередні, агрегували з утворенням окремих лусочок.

Для проведення експерименту брали чисту культуру *S. cerevisiae* штаму У-517 з колекції Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного. Її вирощували на середовищі YPD (yeast extract — 1%, peptone — 2, glucose/dextrose — 2, agar — 2,5%) протягом доби за температури 28°C. Добову культуру пересівали за концентрації 10^5 кл/мл у 25 мл середовища YPD з певними концентраціями наноматеріалів: 0,5 мг/мл; 1,0; 1,5; 2 мг/мл та інкубували протягом 1 доби. Потім дріжджі культивували протягом доби у флаконах по 50 мл. Кількість клітин визначали в камері Горяєва [2]. Кількість клітин визначали в гетерогенній популяції *S. cerevisiae* у стаціонарній фазі росту.

Після добової обробки наноматеріалами 100 мкл культури дріжджів інкубували за наявності 20 мкл МТТ (3-(4,5-диметилтиазоліл-2)-2,5-дифенілтетразоліум бромід)

за концентрації 5 мг/мл протягом 3,5 год при температурі 37°C у 96-лунковому планшеті. Дослідження проводили в трьох повторях. Після інкубації клітин видаляли культуральне середовище та розчиняли кристали формазану у 150 мкл ДМСО. Клітини інкубували за наявності ДМСО протягом 15 хв в умовах темряви і виміряли показники оптичної густини (ОГ) формазану за довжини хвилі 620 нм [7].

Результати та їх обговорення. Установлено, що під впливом нанокмполитів кількість клітин *S. cerevisiae* значно збільшується (рис. 1). Найбільшою мірою це спостерігалось за умови впливу нанокмполиту Nb-Sap-EtO в концентрації 2 мг/мл, коли кількість клітин дріжджів становила $4,17 \cdot 10^8$ кл/мл, що відповідає майже 5-разовому зростанню їх чисельності порівняно з контролем. Це можна пояснити високими окисними властивостями нанопрепаратів на основі сапонітів [6]. Вважаємо, що вони прискорюють процес розпаду складних мікроелементів до простих і таким чином поглинання та засвоєння поживних речовин дріжджами відбувається з меншими енергетичними затратами та швидше й ефективніше.

За даними МТТ-тесту, найбільш виражений ефект порівняно з контролем виявлено для нанокмполитів Saponite-H⁺ та Nb-Sap-EtO за концентрації 0,5 мг/мл та для Nb-Sap-Cl за концентрації 2 мг/мл (рис. 2). Під їх впливом кількість клітин перевищувала контрольний рівень майже в 4 рази. Оптична густина в разі використання Saponite-H⁺ та Nb-Sap-EtO за концентрації 0,5 мг/мл становила 0,7845 та 0,7852 відповідно, а для Nb-Sap-Cl за концентрації 2 мг/мл — 0,8137. Водночас у разі збільшення концентрації нанокмполитів

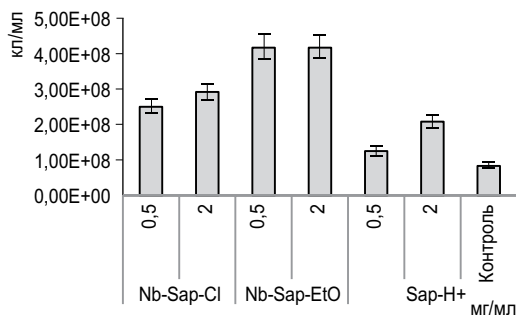


Рис. 1. Вплив нанокмполитів на основі сапонітів на розвиток клітин *S. cerevisiae*

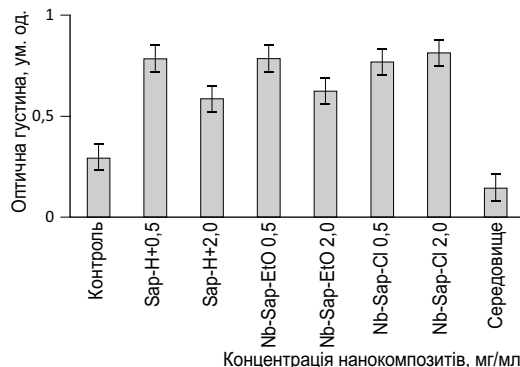


Рис. 2. Вплив нанокмполитів на основі сапонітів на біохімічні властивості *S. cerevisiae*

ефект був дещо менший, проте все одно перевищував значення контролю. Вважаємо, що це пов'язано також з високими окисними

властивостями цих речовин, що стимулює діяльність мітохондріальних редуктаз у клітинах дріжджів.

Висновки

За впливу нанокмполімерів на основі сапонітів кількість клітин у культурі *S. cerevisiae* значно зростає. Найбільшою мірою це спостерігається під впливом нанокмполімеру Nb-Sap-EtO за концентрації 2 мг/мл, коли кількість клітин збільшується в 5 разів порівняно з їх

рівнем на контролі. За даними МТТ-тесту, найбільший ефект порівняно з контролем виявлено в разі використання нанокмполімерів Saponite-H+ та Nb-Sap-EtO за концентрації 0,5 мг/мл, які стимулюють діяльність мітохондріальних редуктаз у клітинах дріжджів.

Бібліографія

1. Вплив наноматеріалів на основі сапонітів ($\text{Si}_{7,34}\text{Al}_{0,66}\text{Mg}_6\text{O}_{20}((\text{OH})_4)$) на ріст біолюмінесцентних бактерій/М. Таран, Я. Кривоблоцький, М. Пономаренко та ін.//Молодь і поступ біології: Х міжнар. наук. конф. студентів та аспірантів, 8–11 квітня 2014 р.: тези доп. — Львів, 2014. — С. 97–98.
2. Change of Extracellular Polymeric Substances Composition of *Thiobacillus thioparus* in Presence of Sulfur and Steel/M. Boretska, S. Bellenberg, O. Moshynets et al.// J. Microb Biochem Technol. — 2013. — № 5. — P. 68–73.
3. Chemistry and physics of a single atomic layer: Strategies and challenges for functionalization of graphene and graphene-based materials/L. Yan, Y.B. Zheng, F. Zhao et al.//Chem. Soc. Rev. — 2012. — № 41. — P. 97–114.
4. Electrochemical properties of CdSe and CdTe quantum dots/ M. Amelia, C. Lincheneau, S. Silvi, A. Credi//Chem. Soc. Rev. — 2012. — № 41. — P. 5728–5743.
5. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications/S. Laurent, D. Forge,
6. M. Port et al.//Chem. Rev. — 2008. — № 108. — P. 2064–2110.
7. Niobium metallocenes deposited onto mesoporous silica via dry impregnation as catalysts for selective epoxidation of alkenes/A. Gallo, C. Tiozzo, R. Psaro et al.//J. Catalysis. — 2013. — V. 298. — P. 77–83.
8. Provost J. MSU Moorhead Department of chemistry [Електр. ресурси]/J. Provost//Summer Hockey 2012, Protocols: [сайт]. — Режим доступу: <http://web.mnstate.edu/provost/MTT%20Proliferation%20Assay%20Protocol%202012.pdf> (19.05.2008). — Назва з екрану.
9. Sherman F. Getting Started with Yeast/F. Sherman//Methods Enzymology. — 2002. — V. 350. — P. 3–41.
10. Single-walled carbon nanotubes as excitonic optical wires/D.Y. Joh, J. Kinder, L.H. Herman et al.//Nat. Nanotechol. — 2011. — № 6. — P. 51–56.
11. Tang F. Mesoporous silica nanoparticles: Synthesis, biocompatibility and drug delivery/F. Tang, L. Li, D. Chen//Adv. Mater. — 2012. — № 24. — P. 1504–1534.

Надійшла 8.04.2015.