

РЕАКТИВИРУЮЩЕЕ И ПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ КРАСНОГО СВЕТА НА ДРОЖЖЕВЫЕ КЛЕТКИ, ИНАКТИВИРОВАННЫЕ УФ-ИЗЛУЧЕНИЕМ

© 2011 Е.В. Пиняскина

Прикаспийский институт биологических ресурсов ДНЦ РАН, г. Махачкала

Поступила в редакцию 13.05.2011

Представлены данные о защитном и реактивирующем действии низкоинтенсивного красного света на дрожжи, инактивированные коротковолновым УФ-излучением. Показано наличие в дрожжевых клетках фотозащитной системы, эффективной при наличии в дрожжевых клетках поврежденных димерной природы, а также повреждений, образующихся по фотодинамическому механизму в генетическом аппарате клетки с участием эндогенных фотосенсибилизаторов.

Ключевые слова: ультрафиолет, дрожжи, фотозащита, фотореактивация

В связи с прогрессирующим разрушением озонового слоя в последнее время большое внимание уделяется фотодеструктивным реакциям, протекающим в биологических системах под действием света ультрафиолетовой (УФ) и видимой областей спектра. Это связано, прежде всего, с важной ролью фотопроцессов в реализации фототоксических и фотоканцерогенных эффектов в коже человека при действии солнечного излучения и поиском эффективных эндогенных фотозащитных систем, уменьшающих повреждающее действие ультрафиолетового излучения на биологические системы.

Цель исследований: выяснить активность длинноволнового видимого света в фотозащитных и реактивационных процессах при коротковолновой УФ-инактивации.

Ранее нами было показано, что устойчивость клеток к средневолновому ультрафиолету (СУФ), длинноволновому ультрафиолетовому облучению (ДУФ-облучению) (290-380 нм) можно повысить воздействием длинноволнового света с максимумом эффективности в красной области при 680 нм [1-4]. По изученным закономерностям обнаруженный эффект отличается от известных защитных процессов, что позволило сделать вывод о наличии у дрожжей неизвестного ранее фотоиндуцированного защитного механизма, обеспечивающего защиту клеток от СУФ (связанного с образованием пиримидиновых димеров и 6,4-аддуктов в ДНК), а также ДУФ, индуцирующего фотоповреждения путем фотосенсибилизации (например, одноцепочечные разрывы). Нам представлялось интересным проверить, сохраняются ли обнаруженные нами эффекты при инактивации дрожжевых клеток коротковолновым (КУФ, 254 нм) ультрафиолетом.

В предварительных экспериментах была определена чувствительность микроорганизмов к КУФ-облучению. Полученные дозовые кривые при КУФ-инактивации на клетки *S.cerevisiae* и *S.guilliermondii* имеют экспоненциальный характер и чувствительность обоих штаммов примерно одинакова: D_{37} для *S.cerevisiae* и *S.guilliermondii* ≈ 23 и 28 Дж/м². В последующих опытах клетки, облученные фиксированной дозой КУФ (175 Дж/м²), снижавшей уровень их выживаемости до $\sim 30\%$, подвергали воздействию монохроматического света в области 405-680 нм, используя найденные нами режимы облучения [1, 2].

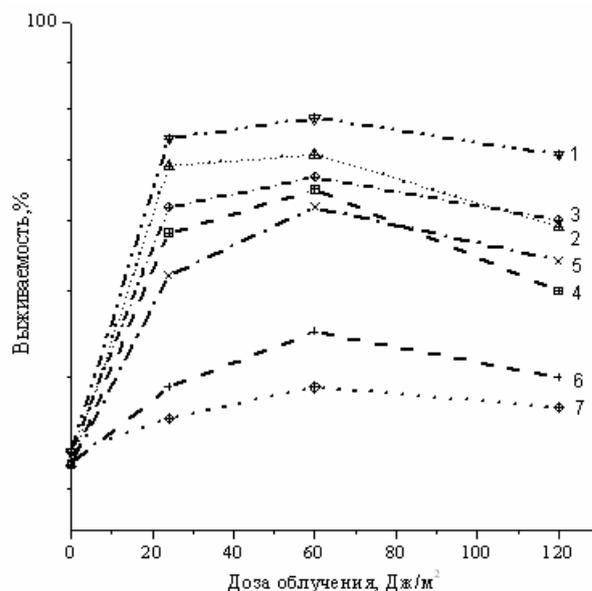


Рис. 1. Зависимость фотовосстановления КУФ-инактивированных клеток от озы (времени) облучения монохроматическим светом в области 405-680 нм:

1 – 680; 2 – 660; 3 – 630; 4 – 610; 5 – 546; 6 – 436; 7 – 405. Доза облучения 174 Дж/м². Каждая точка отражает среднее значение 7 экспериментов

Пиняскина Елена Владимировна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник доцент. E-mail: elpin1@rambler.ru

Типичные кривые, характеризующие зависимость выживаемости таких клеток (зависимость доза-эффект) представлены на рис. 1. Видно, что максимальная эффективность фотореактивации достигается при кратковременном воздействии монохроматического красного света в малых дозах. С увеличением дозы облучения эффективность фотореактивации снижается.

При изучении спектра действия эффекта оценивалась не только относительная эффективность монохроматического красного света, но изучалось действие «синей» области спектра. Интенсивность света была выровнена и составляла $\approx 0,2$ Вт/м². Очевидна сходная форма дозовых кривых фотореактивации при всех использованных длинах волн в диапазоне 405-680 нм. Анализ полученных дозовых кривых показывает кардинальное отличие от известных дозовых кривых, характерных для ферментативной фотореактивации (которые при достаточно высоких дозах синего света достигают уровня насыщения).

При исследовании фотореактивирующих защитных систем у *S.cer.* и *C.guill.* дрожжи облучали синим светом, активным как в ферментативной фотореактивации, так и при ФР680, изменяя режимы облучения и температуру по следующей схеме: предварительно инактивированные фиксированной дозой КУФ-света (175 Дж/м²) клетки облучали монохроматическим светом $\lambda=405$ нм разной интенсивности: $\approx 0,2$ Вт/м² в первые 30 мин (температура облучения $\approx +4^\circ\text{C}$) и $\approx 1,5$ Вт/м² (температура облучения $\approx +22^\circ\text{C}$). Видно (рис. 2 (*S.cer.*)), что форма кривой фотореактивации аналогична полученной нами ранее при инактивации клеток СУФ-излучением [3] и имеет 2 составляющие: одну (при малых временах и дозах облучения), характерную для ФР680, и вторую (имеющей насыщение при больших временах и дозах облучения), типичную для ферментативной фотореактивации. На рис. 2 (*C.guill.*) показана эффективность в фотовосстановлении *C.guill.* только фотореактивации от 680 нм (ФР680), поскольку клетки не имеют фотолиазы и, соответственно, не способны к восстановлению при пострадиационном действии больших доз синего света. Тот факт, что эффективность фотовосстановления не зависит от температуры, указывает на фотохимическую природу процессов, протекающих на начальной (световой) стадии ФР680.

Дальнейшие эксперименты показали, что понижение температуры до 4°C в период между облучением клеток реактивирующим светом и их высевом на питательную среду приводит к снижению эффективности ФР680 и к полному её исчезновению к 3 ч выдерживания (рис. 3). Предполагаем, что такой период времени необходим для завершения тех фотоиндуцированных биохимических процессов в клетке, которые в итоге приводят к восстановлению клетки. Независимость эффективности ФР680 от температуры в течение первых 30 мин (см. рис. 3) вероятно

связана с медленным развитием биохимических изменений в клетке на начальных стадиях после фотопревращений первичного фоторецептора.

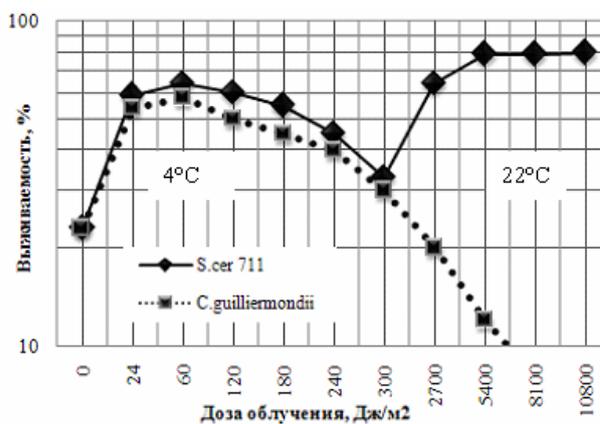


Рис. 2. Зависимость фотовосстановления КУФ-инактивированных клеток *S.cer.* и *C.guill.* от дозы облучения монохроматическим светом 405 нм. Доза КУФ-излучения – 175 Дж/м² ($\approx 30\%$ выживаемости)

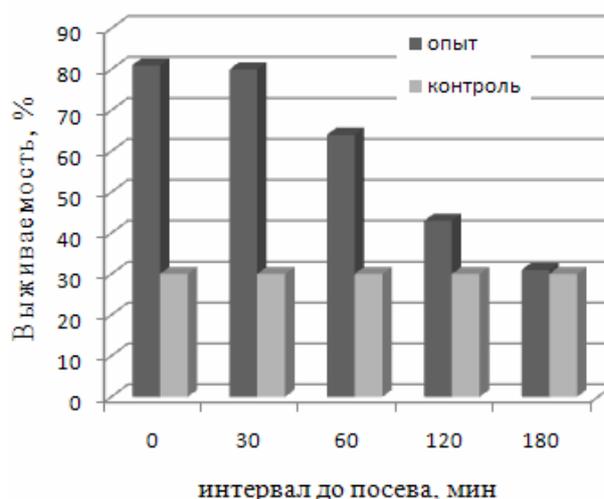


Рис. 3. Зависимость фотовосстановления клеток, инактивированных КУФ-светом (175 Дж/м²), от времени их выдерживания после облучения монохроматическим светом 680 нм

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что у дрожжей существуют разные фотозащитные системы, направленные на увеличение выживаемости при КУФ-инактивации клеток. Поскольку ферментативная фотореактивация наблюдается только при последовательном облучении клеток сначала УФ-излучением, а затем реактивирующим светом, мы решили установить наличие эффектов фотозащиты, изменив схему облучения. Сначала облучали клетки монохроматическим светом длинами волн, активных при ФР680, а затем возрастающими дозами инактивирующего КУФ-излучения. При такой последовательности воздействия свет 680 нм защищает клетки от КУФ-инактивации. Исходя из полученных данных мы

определили зависимость эффекта фотозащиты от дозы облучения монохроматическим светом. Необходимо отметить, что форма кривой, отражающей эту зависимость, отличается от известной формы дозовой кривой фотозащиты, индуцированной ДУФ-светом, (которая была ранее показана у дрожжей [5]), но аналогична соответствующим кривым ФР680 (см. рис 1). Идентичный характер зависимости установлен и для света других длин волн в диапазоне 405-700 нм, также активных в обнаруженной фотозащите. Наибольший защитный эффект проявлял монохроматический красный свет 680 нм.

Выводы: изложенный выше экспериментальный материал показывает, что с участием длинноволнового видимого света уменьшается летальное действие КУФ-излучения, индуцирующего повреждение в генетическом аппарате. Исходя из полученных нами экспериментальных данных, приведенных в данной статье и полученных ранее, можно констатировать, что низкоинтенсивный красный свет ($\lambda=680$ нм) инициирует фотоиндуцированную защитную систему, которая является эффективной при наличии в клетках повреждений не только димерной природы, но и повреждений, образующихся в генетическом аппарате клетки по фотодинамическому механизму с участием эндогенных фотосенсибилизаторов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Фрайкин, Г.Я. Новая фотоиндуцибельная защитная система в клетках *Candida guilliermondii* при летальном действии средневолнового ультрафиолетового излучения / Г.Я. Фрайкин, Пиняскина Е.В., М.Г. Страховская, А.Б. Рубин // Доклады РАН. 1995. Т. 343. № 2. С.265-267.
2. Fraikin, G. New Type of Photoreactivation of UVB-inactivated Cells / G. Fraikin, E. Pinyaskina // Photodermatol., Photoimmunol. Photomed. 1995. Vol. 11. P. 23.
3. Пиняскина, Е.В. Индуцированное красным светом восстановление жизнеспособности дрожжей при фотодинамическом действии оптического излучения / Е.В. Пиняскина, Н.С. Беленикина, Г.Я. Фрайкин, А.Б. Рубин // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология. 2007. №1. С. 31-34.
4. Пиняскина, Е.В. Реактивирующее и протекторное действие красного света на дрожжевые клетки, инактивированные UVC-излучением // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2010. Т. 12, № 1(3). С. 795-797.
5. Страховская, М.Г. О роли серотонина в проявлении эффектов фотозащиты и усилении летального действия ультрафиолетового света на дрожжи *Rhizoglyphus nigellus* / М.Г. Страховская, Г.Я. Фрайкин, А.Б. Рубин // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1982. Т. 5. С. 767-770.

REACTIVATED AND PROTECTIVE EFFECT OF RED LIGHT ON THE YEAST CELLS INACTIVATED BY UVC-IRRADIATION

© 2011 E.V. Pinyaskina

Pricaspian Institute of Biological resources DSC RAS, Makhachkala

Data on the protective effect of low intensity and reactivates the red light on the yeast, inactivated by UVC light are obtained. The presence in yeast cells photoprotective system, effective in the presence of yeast cells, the dimeric nature of the injury and damage resulting by photodynamic mechanism in the genetic apparatus of cells with endogenous photosensitizers is shown. The similarity in photoreduction effects for yeast cell viability when they are inactivated both with UV irradiation and visible light indicates that they are based on an identical, previously unknown, photo-induced reactivating mechanism, which is not specific in respect to the nature of lethal damage.

Key words: *ultraviolet, yeasts, photoprotection, photoreactivation*