

БИОНЕОРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ**ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КЛЕТОК ПИВОВАРЕННЫХ ДРОЖЖЕЙ
SACCHAROMYCES CEREVISIAE С МАГНИТНЫМИ ЖИДКОСТЯМИ****Аронбаев Дмитрий Маркизович**

канд. хим. наук, доцент, химический факультет, Самаркандский государственный университет,
140104, Узбекистан, г. Самарканд, Университетский бульвар, 15
E-mail: diron51@mail.ru

Аронбаев Сергей Дмитриевич

д-р хим. наук, заведующий лабораторией «Экологические системы и приборы»,
Самаркандский государственный университет,
140104, Узбекистан, г. Самарканд, Университетский бульвар, 15
E-mail: diron51@mail.ru

Насимов Абдулло Мурадович

д-р техн. наук, профессор, химический факультет, Самаркандский государственный университет,
140104, Узбекистан, г. Самарканд, Университетский бульвар, 15
E-mail: nasimovsensor@samdu.uz

**THE STUDY OF CELLULAR INTERACTION OF BREWER'S YEASTS SACCHAROMYCES
CEREVISIAE WITH MAGNETIC LIQUIDS****Dmitry Aronbaev**

candidate of Chemical Sciences, Associate Professor, Department of Chemistry, Samarkand State University,
140104, Uzbekistan, Samarkand, University Boulevard, 15

Sergey Aronbaev

doctor of Chemical Sciences, Head of the Laboratory "Ecological Systems and Devices", Samarkand State University,
140104, Uzbekistan, Samarkand, University Boulevard, 15

Abdullah Nasimov

doctor of Engineering Sciences, Professor, Department of Chemistry, Samarkand State University,
140104, Uzbekistan, Samarkand, University Boulevard, 15

АННОТАЦИЯ

Методом просвечивающей электронной микроскопии изучен характер взаимодействия дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* с магнитными жидкостями. Показано, что модифицирование пивоваренных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* магнитной жидкостью на основе наночастиц магнетита является активным процессом, который следует проводить с культивированными клетками, находящимися в экспоненциальной фазе роста.

ABSTRACT

The nature of brewer's yeasts *Saccharomyces cerevisiae* interaction with magnetic fluids is studied by the transmission electron microscopy method. It is shown that the modification of brewer's yeasts *Saccharomyces cerevisiae* by the magnetic liquid on the basis of magnetite nanoparticles is an active process which should be done with the tissue culture cells which are in the exponential growth phase.

Ключевые слова: клетки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, магнитные жидкости, просвечивающая электронная микроскопия, инкубирование, наночастицы магнетита, эндоцитоз.

Keywords: cells of brewer's yeasts *Saccharomyces cerevisiae*; magnetic fluids; transmission electron microscopy; incubation; magnetite nanoparticles; endocytosis.

Введение

Применение магнитоуправляемых материалов открывает новые возможности сорбционных технологий, по извлечению экотоксикантов из водной среды [8,10,13]. Придание сорбентам магнитных свойств осуществляется обработкой предполагаемых сорбционных материалов магнитными жидкостями (МЖ) на основе магнетита [12]. В последние годы в мировой практике все шире стали применять для ремедиации сточных и поверхностных вод биосорбционные технологии, основанные на применении живых или мертвых микроорганизмов различных таксономических групп, в частности, дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae*, составляющих практически неисчерпаемый ресурс для получения на их основе дешевых сорбентов.

В предшествующих наших работах были показаны сорбционно-аналитические свойства клеточных стенок дрожжей и возможность применения биосорбентов на их основе [3]. Совместная иммобилизация КСД и магнетита в Са-альгинатный гель привело к созданию нового перспективного смарт-материала широкого инженерно-технологического и экологического назначения [4,6]. В связи с этим изучение взаимодействия микроорганизма с ферромагнитными жидкостями приобретает особую актуальность.

Следует особо отметить, что изучение взаимодействия живых клеток с наноматериалами вообще представляет огромный интерес, так как оценка таких взаимодействий может быть использована для выявления токсичных свойств наноматериалов и направленного изменения свойств клеток, визуализации клеточных органелл, высокоточной идентификации микроорганизмов и применения клеток в качестве трехмерных темплатов [7].

Цель настоящей работы заключается в изучении характера взаимодействия клеток пивоваренных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* с компонентами магнитных жидкостей на основе синтезированного магнетита.

Материалы и методы

В работе использовали культивируемые клетки пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* штамм W37, нативные и подвергнутые тепловой обработке в кипящей воде в течение 20 минут.

Для этого навеску 2 г сухих дрожжей суспендировали в 10 мл раствора 0,1 М ацетатного буфера с рН 5,2. Затем осадок отделяли от жидкой фазы центрифугированием при 3000 об/мин в течение 15 мин.

Полученную биомассу дрожжей инкубировали в течение 2 часов с магнитной жидкостью на основе синтетического магнетита, стабилизированной хлорной кислотой. Магнетит получали по методике [1,11]. Концентрацию наночастиц магнетита в образце магнитной жидкости определяли колориметрическим методом с использованием фотоколориметра КФК-3[9].

Процедура получения магнитомеченных дрожжевых клеток заключалась в следующем:

3 мл суспензии дрожжей смешивали с 1 мл магнитной жидкости и инкубировали при 30⁰С в течение 2 часов при перемешивании. При этом большинство

дрожжевых клеток становились магнитомодифицированными. Немангнитные дрожжевые клетки отделяли от модифицированных с использованием постоянного магнита. Остаточную магнитную жидкость также удаляли, применяя многократную отмывку ацетатно-буферным раствором до получения прозрачного супернатанта.

Аналогичным способом проводили магнитную модификацию мертвых дрожжевых клеток, полученных при термической обработке дрожжей.

Полученные образцы модифицированных дрожжевых клеток промывали, фиксировали и подготавливали для просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) [5]. Изображения были получены на микроскопе Jeol 1200 EX (Япония) при ускоряющем напряжении 80 kV.

Результаты и обсуждение

Просвечивающая электронная микроскопия является одним из основных инструментов, применяемых для изучения взаимодействия наночастиц и живых клеток.

На рис. 1 представлены микрофотографии, полученные с помощью ПЭМ. Снимки показали небольшое количество магнитных наночастиц на поверхности клеточной стенки дрожжей и значительно большее количество их во внутреннем пространстве клеток. Также видно, что именно наноразмерные частицы магнетита находятся между клеточной стенкой и плазматической мембраной, т.е. периплазматическом пространстве PS (Periplasmatic Space).

На рисунке 2 представлены микрофотографии магнито-модифицированной дрожжевой клетки, подвергнутой тепловой обработке. Здесь наблюдается большее скопление наночастиц на поверхности клеточной стенки CWY (Cell Wall of Yeast), а не в периплазматическом пространстве и внутри самой клетки.

Следует отметить, что магнитные наночастицы были способны преодолевать клеточную стенку, но не клеточную мембрану. А ведь известно, что именно клеточная мембрана, а не клеточная стенка дрожжей может отвечать за селективную сорбцию экотоксикантов. А это означает, что процедура физического воздействия на клетку, например, нагревание, и порядок осуществления магнитной модификации может приобретать большее значение с точки зрения адсорбционной емкости клеток.

Нами также было изучено влияние фазы роста клеточной массы дрожжей на способность ее модифицирования магнетитом. Для этого проводили эксперимент, включающий только инкубирование дрожжевой биомассы с магнитной жидкостью и инкубирование с магнитной жидкостью культивируемых дрожжей, находящихся в фазе роста. Методом просвечивающей электронной микроскопии были установлено, что во втором случае, т.е. при инкубировании с магнитной жидкостью культивируемых дрожжевых клеток, находящихся в фазе роста, наночастиц магнетита несравненно больше, чем для обычных дрожжевых клеток. Это объясняется, тем, что для культивируемых клеток в экспоненциальной фазе роста, имеет место ускорение всех клеточных

функций, а значит и способности эндоцитоза – захвата наночастиц магнетита при инкубировании таких клеток с магнитной жидкостью [2]. А это, в свою очередь, доказывает, что процесс интернализации на-

ночастиц является активным, а не пассивным явлением. К аналогичному выводу приходят и другие исследователи [7].

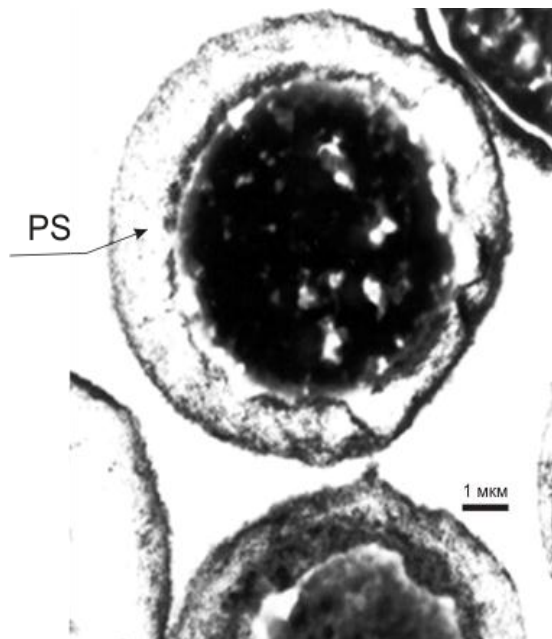


Рисунок 1. ПЭМ снимки дрожжевой клетки инкубированной с МЖ

Внутри клетки и периплазматическом пространстве PS (отмечено стрелкой) сосредоточено большинство наночастиц магнетита.

Выводы

В результате проведенных исследований, мы пришли к следующим выводам:

1. Модифицирование пивоваренных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* магнитной жидкостью на основе наночастиц магнетита является активным

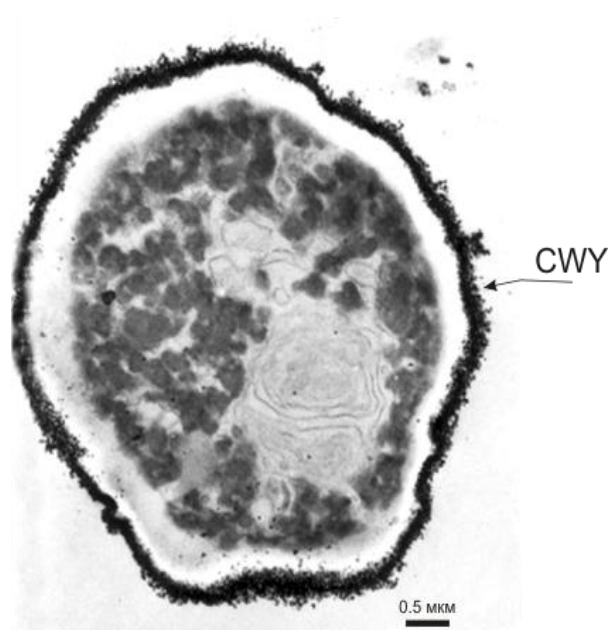


Рисунок 2. ПЭМ снимки дрожжевой клетки, подвергнутой тепловой обработке и инкубированной с МЖ

Магнитные наночастицы покрывают клеточную стенку дрожжей CWY (отмечено стрелкой) и не проникают в периплазматическое пространство и внутрь клетки.

процессом, который следует проводить с культивируемыми клетками, находящимися в экспоненциальной фазе роста.

2. Предложены подходы в получении магнитомодифицированных дрожжей, представляющих собой перспективный биосорбционный смарт-материал инженерно-экологического назначения.

Список литературы:

1. Аронбаев Д.М., Аронбаев С.Д., Насимов А.М., Васина С.М., Эргашев И.М., Насимов Х.М., Али-Ахунов А. Синтез и исследование суперпарамагнитных свойств наночастиц магнетита и магнитных жидкостей на их основе // Научный Вестник СамГУ, 2013, №5 с.97-101.
2. Аронбаев Д.М., Исмаилов З.Ф., Насимов А.М., Аронбаев С.Д., Кабулов Б.Д. Эта тонкая грань между «нано» и «био» // Научный Вестник СамГУ, 2014, №5. –С. 110-123.
3. Аронбаев С.Д. Биосорбция экотоксикантов сахаромикетами. Применение в анализе (Монография) / LAP . Lambert Academic Publishing / Deutschland. 2016. – 224 p.
4. Аронбаев С.Д., Насимов А.М. Аронбаев Д.М. Магнитоуправляемые смарт-босорбенты на основе клеточных стенок пивоваренных дрожжей и наноструктурированного магнетита // Вестник НУУ. - 2016. - №3/2. – С.242-244.
5. Замалеева А.И., Алимова Ф.К., Ишмухаметова Д.Г., Фахрулина Р.Ф. Микроскопические методы для характеристики нано-модифицированных клеток микромицетов // Ученые записки Казанского государственного университета. Естественные науки. – 2010. – т.152. – С.110-120.
6. Aronbaev S.D., Nasimov A.M., Aronbaev D.M. Potential of biosorption technologies // WORLD SCIENCE “New Opportunities in the World Science” – 2015. - №1 (August 22-23, 2015, Abu-Dhabi, UAE). P. 22-26
7. Azevedo R. B., Silva L. P., Lemos A. P. C., Bão S. N., Lacava Z. G. M., Safarik I., Safarikova M., Morais P. C. Morphological study of *Saccharomyces cerevisiae* cells treated with magnetic fluid // IEEE Trans. on Magn.-2003.-Vol.39, # 5.-P.2660-2662.

8. Ebner A. D., Ritter J. A. , Ploehn H. J. , Kochen R. L. , Navratil J. D.
9. New magnetic field-enhanced process for the treatment of aqueous wastes // *Separ. Sci. Technol.*-1999.- vol. 34. - pp. 1277–1300.
10. Kiwada H., Sato J., Yamada S. Feasibility of magnetic liposomes as a targeting device for drugs // *Chem. Pharm. Bull.*-1986.- vol. 34.- pp. 4253–4258.
11. Kurinobu S. , Uesugi J., Utumi Y., Kasahara H. Performance of HGMS filter and recycling of magnetic seeding material on magnetic seeding method // *IEEE Trans. Magn.*- 1999. vol. 35, pp. 4067–4069.
12. Massart R. Preparation of aqueous magnetic liquids in alkaline and acidic media // *IEEE Trans. Magn.*- 1981.vol. MAG-17/ - P. 1247–1248.
13. Robinson T., McMullan G., Marchant R. , Nigam P. Remediation of dyes in textile effluent: A critical review on current treatment technologies with a proposed alternative // *Bioresource Technol.*- 2001. - vol. 77. - P.247–255.
14. Safarik I. , Safarikova , M. Use of magnetic techniques for the isolation of cells // *J. Chromatogr.* -1999. B. - vol. 722. –P. 33–53.