

Цитофизиологические особенности суспензионных культур клеток *Dioscorea deltoidea* Wall.

Научный руководитель – Титова Мария Владимировна

Лунькова Мария Константиновна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра физиологии растений, Москва, Россия

E-mail: Maria393Lunkova@gmail.com

Dioscorea deltoidea Wall произрастает в горных районах Азии и активно используется в местной традиционной медицине. В качестве альтернативы природному растительному сырью, в ИФР РАН был получен ряд штаммов культур клеток *D. deltoidea*, синтезирующих характерные для данного вида фураностаноловые гликозиды - биологически активные вещества с широким спектром действия [1]. Исследуемые в данной работе линии культуры клеток *D. deltoidea* были получены путём обработки исходного штамма ИФР Д1 химическим мутагеном N-нитрозо-N-метилмочевинной. Однако для линии ДМ-05к обработка была одинарной, а для ДМ-03 - двойной. Целью нашего исследования было сравнить линии ДМ-03 и ДМ-05к суспензионной культуры клеток *D. deltoidea* по цитологическим и физиологическим характеристикам.

В ходе исследования проводили определение ростовых характеристик и динамики роста по стандартным биотехнологическим методам. Клетки, находящиеся в S-фазе митотического цикла, выявляли с использованием клик-реакции 5-этинил-2'-дезоксигуанидина с азидами флюорохромов. Анализ дыхательной активности проводили полярографическим методом. Активность антиоксидантных ферментов измеряли спектрофотометрическими методами. Количественный анализ фураностаноловых гликозидов осуществили с помощью УЭЖХ ЭР МС.

Показано, что суспензионная культура клеток ДМ-05к обладала более высокими ростовыми характеристиками по сравнению с линией ДМ-03 (рис. 1). Для линии ДМ-03 были выявлены более низкие доли S-фазных клеток в начале ростового цикла (4,0%) по сравнению с ДМ-05к (6,0%), что, возможно, говорит о меньшей интенсивности пролиферации. Начиная с экспоненциальной фазы в суспензии линии ДМ-05к доля клеток с диаметром более 33 мкм была в 2 раза больше по сравнению с ДМ-03, а доля мелких (менее 20 мкм) - в 4 раза меньше. В популяции линии ДМ-03 наблюдали около 5% удлинённых изогнутых клеток. По степени агрегированности клеток обе линии являются относительно мелкоагрегированными.

Значения скорости общего дыхания для двух линий диоскорееи практически не отличались. Однако, начиная с экспоненциальной фазы роста доля альтернативного дыхания для линии ДМ-03 была в 2 раза больше, чем для ДМ-05к (рис. 2). Первичный скрининг активности антиоксидантных ферментов (аскорбатпероксидазы, каталазы и супероксиддисмутазы) показал, что для ДМ-03 их активность в целом выше. Линия ДМ-03 также отличается от ДМ-05к в 10 раз большей долей S-форм, в 2 раза меньшим содержанием дельтозида и на 28% большим суммарным содержанием фураностаноловых гликозидов на 14 сутки.

Таким образом, для линий ДМ-03 и ДМ-05к суспензионной культуры клеток *D. deltoidea* были выявлены различия по цитофизиологическим характеристикам. Полученные данные будут использованы в дальнейшем для подбора оптимальных условий аппаратного выращивания.

Источники и литература

- 1) Titova M. V. et al. Suspension cell culture of *Dioscorea deltoidea* – A renewable source of biomass and furostanol glycosides for food and pharmaceutical industry //Agronomy. 2021. Т. 11. №. 2. С. 394.

Иллюстрации

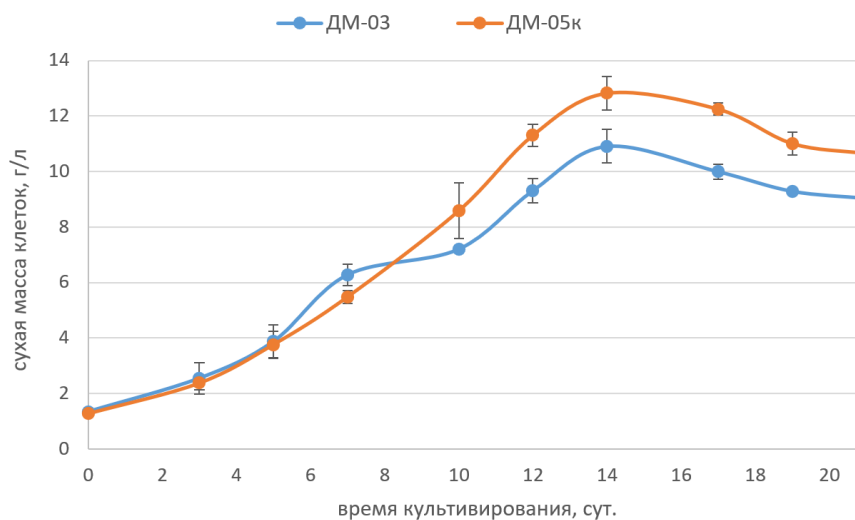


Рис. 1. Динамика роста по сухой биомассе линий ДМ-03 и ДМ-05 суспензионной культуры клеток *D. deltoidea*.

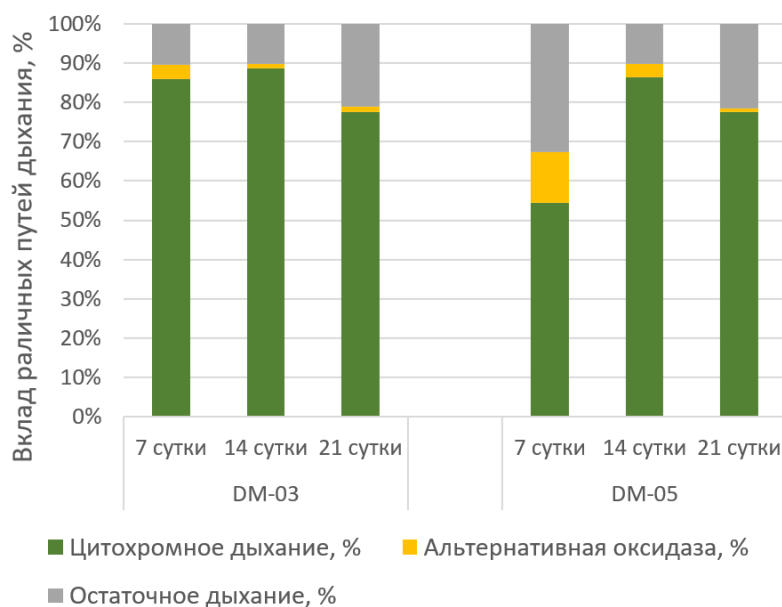


Рис. 2. Вклад различных путей дыхания (в % от общей интенсивности) в общее поглощение кислорода клетками линий ДМ-03 и ДМ-05 суспензионной культуры клеток *D. deltoidea*.