



Студентка НГУ разгадывает тайну живучести ТИХОХОДОК

Метод спектроскопии комбинационного рассеивания света для изучения физиологических механизмов перехода тихоходок в состояние криптобиоза применила студентка 2 курса магистратуры [Физического факультета Новосибирского государственного университета](#), научный сотрудник Лаборатории [спектроскопии конденсированных сред Института автоматики и электрометрии СО РАН](#) **Анастасия Омельченко**. Ранее данная методика применялась к эмбрионам мыши. В последнее время этот метод представляется как наиболее перспективный для исследования живых объектов и применения в различных областях биологии.

В дальнейшем результаты исследования могут быть полезными в области развития биотехнологий. Содействие молодой исследовательнице в этой работе оказал заведующий лабораторией, доктор физико-математических наук **Николай Суровцев**, а также научный руководитель кандидат физико-математических наук **Константин Окотруб**.

Преимущество метода спектроскопии — его неинвазивность. В ходе исследования образцы (в том числе живые) не разрушаются и не получают каких-либо повреждений. В Лаборатории спектроскопии конденсированных сред ИАиЭ СО РАН занимаются развитием применения оптической спектроскопии по отношению к биологическим объектам. Ранее ученые лаборатории завершили проект, посвященный исследованию метаболизма преимплантационных эмбрионов мыши с помощью дейтерированных меток. Тогда исследования проводились на предимплантационных эмбрионах мыши, на образцах тканей, теперь же объектами изучения стали организмы, пусть и малые по размеру. Благодаря применению метода спектроскопии комбинационного рассеяния света можно определить различные молекулярные особенности исследуемого объекта — его состав, количественные соотношения различных молекул, их фазовое состояние и структуру.

— *Тихоходок в качестве объекта изучения мы с моим научным руководителем кандидатом физико-математических наук, научным сотрудником Института автоматики и электрометрии СО РАН Константином Окотрубом выбрали потому, что эти удивительные существа обладают уникальными способностями к выживанию в самых экстремальных условиях: в вакууме, в кипятке и в жидком азоте. Их не убивает ни высокий*

уровень радиации, ни большие давления. Но есть один нюанс: они обладают такой фантастической живучестью лишь в состоянии криптобиоза. Это состояние, при котором происходит замедление уровня метаболизма под воздействием неблагоприятных условий или иных факторов окружающей среды. В этом состоянии тихоходки обездвиживаются, сжимаются, а при наступлении благоприятных условий снова оживают. Если подвергнуть экстремальным воздействиям не замершую тихоходку, вне состояния криптобиоза, она погибнет, как и любой другой живой организм. Исследовать переход тихоходки в это состояние — довольно интересная задача, которая на сегодняшний момент не решена. До конца не изучен этот процесс и на молекулярном уровне. Оптическая спектроскопия, одним из методов которой является спектроскопия комбинационного рассеяния света, позволяет изучать его на индивидуальном животном: производить различные измерения и манипуляции, переводить его в состояние криптобиоза, а потом обратно и снова измерять и наблюдать, как он будет дальше развиваться. В этом и заключается основной смысл нашего исследования, — рассказывает Анастасия Омельченко.



Исследовательница отмечает, что работать с тихоходками непросто. Если образцы из живых клеток неподвижны, то тихоходки активно передвигаются и пытаются уклониться от лазера, воздействие которого хоть и не причиняет им вреда, но создает дискомфорт. Эффективных и безвредных способов обездвижить тихоходку не существует. Сотрудники лаборатории нашли решение этой проблемы за счет особой конструкции из кварцевых стекол, ограничивающих передвижения исследуемых организмов. Также они воспользовались способностью тихоходок переходить в состояние криптобиоза. В этом состоянии организм полностью обездвижен. Состояние криптобиоза тихоходки инициировали добавлением в среду хлорида кальция. После эксперимента животное перемещали обратно в чистую воду, где тихоходки снова переходили в активное состояние. Их искусственно поместили в раствор хлорида кальция (CaCl_2) определенной концентрации, из-за чего произошло закукливание, при помещении в воду подвергнутые этой манипуляции тихоходки снова оживали и переходили в активное состояние.

— Решение со стеклами оказалось очень эффективным. Обычно под микроскопом тихоходка оказывается очень темной - за счет плотной структуры она сильно поглощает падающее излучение. Но если ее немного прижать стеклом, при этом не раздавив, тихоходка становится прозрачной, а ее движения ограничиваются. Небольшое давление в

течение часа тихоходки переносят без каких-либо негативных последствий. Для нас это очень важно, ведь наша цель – исследование именно живых тихоходок. Однако исследования с применением методов оптической спектроскопии сопряжено с рядом технических трудностей. Например, некоторые внутренние структуры тихоходок вносят паразитный вклад в спектры в виде большой фотолюминесцентной подставки, которая мешает наблюдать полезный сигнал, — рассказала Анастасия Омельченко.

На протяжении года Анастасия Омельченко и ее коллеги отработывали неинвазивные и неразрушающие методики исследования и приготовления образцов. Тогда же определились, какие именно тихоходки максимально подходят для исследований, поскольку существует более тысячи видов этих беспозвоночных, различных по размерам тела, образу жизни, питанию. Наиболее подходящими оказались крупные хищные виды. В ходе исследования их подвергли излучению красного и зеленого лазера, что позволило получить разные по характеру спектры комбинационного рассеяния света.

— В ходе экспериментов выяснилось, что не на всех тихоходок лазер воздействует одинаково. В некоторых случаях отдельные особи выходили из криптобиоза и расправлялись, как это бывает при наступлении благоприятных для жизни условий. Здесь, очевидно, задействован какой-то внутримолекулярный процесс, который необходимо тщательно исследовать, чтобы понять причину происходящего. В ближайшее время мы намерены изучать спектры тихоходок в состоянии криобиоза. Иначе говоря, если ранее мы их подвергали осмотическому давлению, то теперь будем замораживать. Это необходимо, чтобы сравнить их спектры в обоих состояниях и определить, какие процессы при этом происходят в организмах этих беспозвоночных. Сами тихоходки в процессе замораживания не страдают — эти существа способны выдерживать экстремально низкие температуры. Например, они способны сохраняться в течение 20 месяцев в жидком кислороде при $-193\text{ }^{\circ}\text{C}$, — объяснила Анастасия Омельченко.

Знания о механизмах перехода тихоходок из одного состояния в другое и процессах, происходящих при этом на молекулярном уровне, могут быть в дальнейшем применимы в биотехнологиях, позволяющих выделить конкретные метаболические пути и использовать в искусственных системах.

Елена Панфило, пресс-служба НГУ

Источники:

[Студентка НГУ разгадывает тайну живучести тихоходок](#) – Новосибирский государственный университет (nsu.ru), Новосибирск, 15 октября 2024.

[Студентка НГУ разгадывает тайну живучести тихоходок](#) – Seldon.News (news.myseldon.com), Москва, 15 октября 2024.