

Влияние гипоксии на накопление гинзенозидов в суспензионной культуре клеток женьшеня *Panax japonicus* var. *repens*

Глаголева Е.С., Суханова Е.С., Кочкин Д.В.

glagoleva@mail.bio.msu.ru

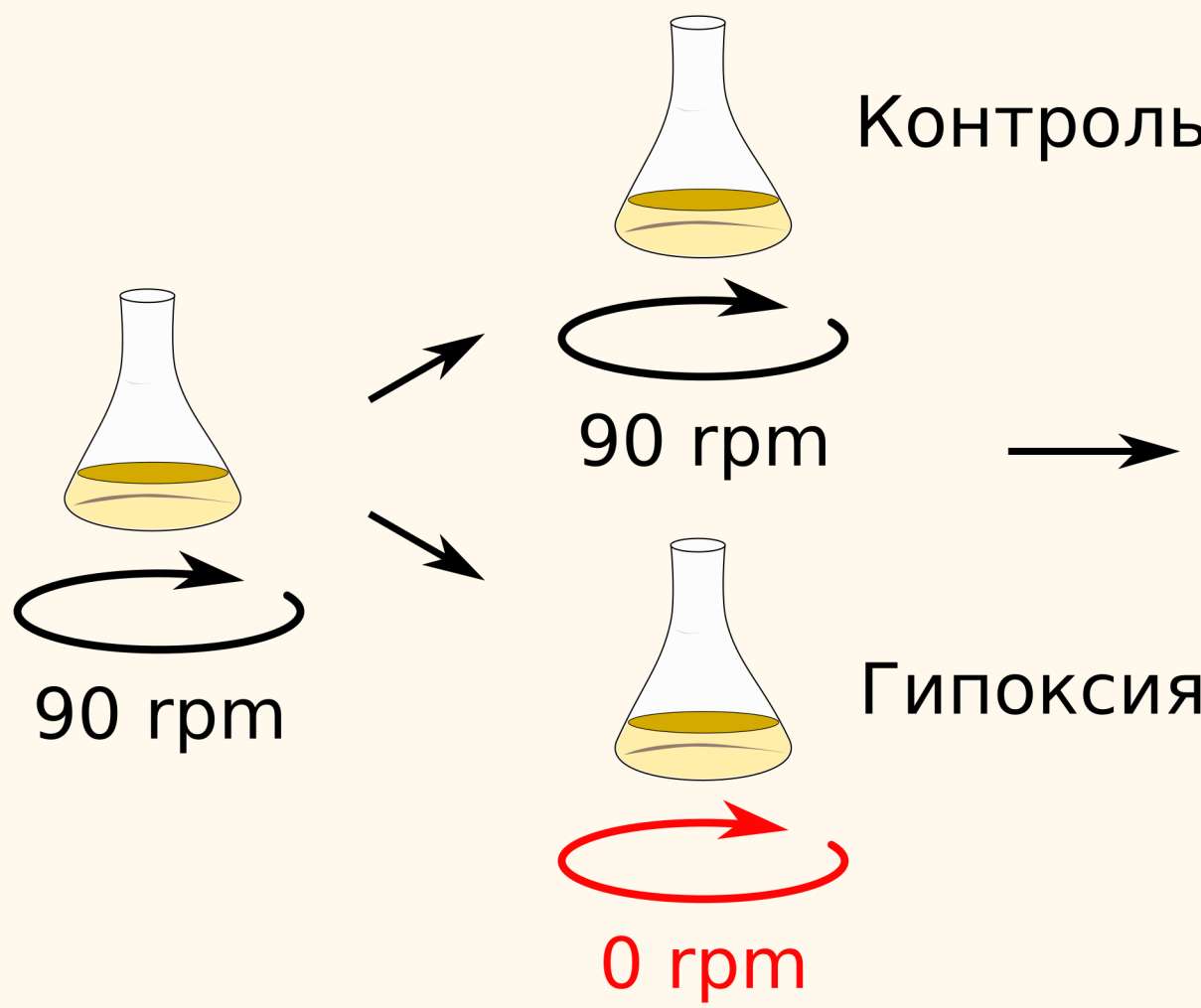
Кафедра физиологии растений, Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Введение

Гинзенозидами называют тритерпеновые гликозиды растений рода Женьшень. Культура клеток является альтернативным источником получения этих соединений. Из-за малой растворимости кислорода в воде клетки в суспензионных культурах, даже при непрерывном перемешивании, могут испытывать кислородное голодание. Изменение парциального давления кислорода в газовой фазе может влиять на общее содержание гинзенозидов в клетках культуры женьшеня [1]. Однако о влиянии гипоксии на накопление индивидуальных гинзенозидов в культуре клеток или интактных растениях практически ничего не известно.

Цель работы: исследовать изменение содержания гинзенозидов в суспензионной культуре клеток *Panax japonicus* var. *repens* при гипоксии

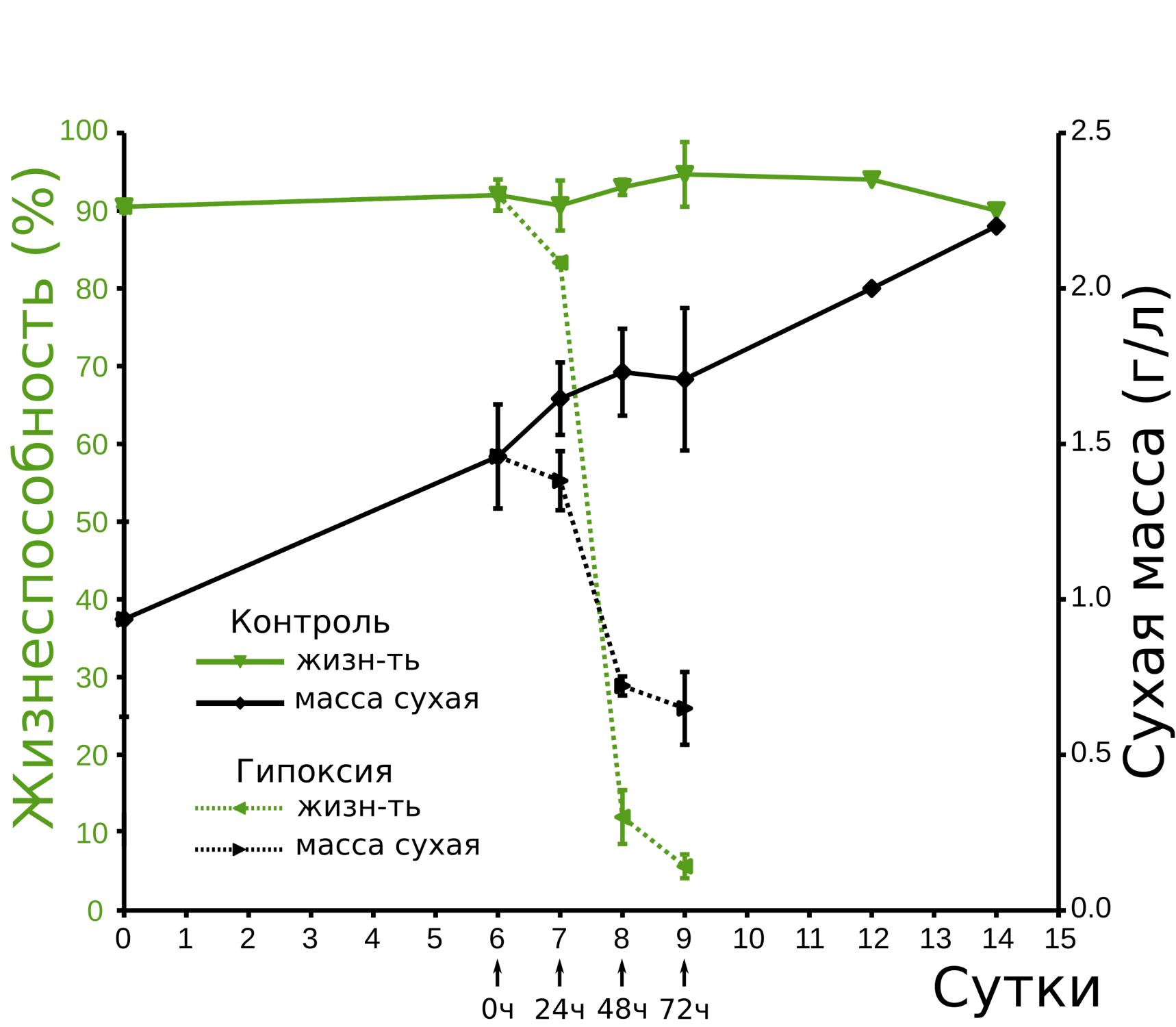
Экспериментальный подход



Анализ гинзенозидов в высушенной биомассе и культуральной среде с помощью ВЭЖХ-МС.

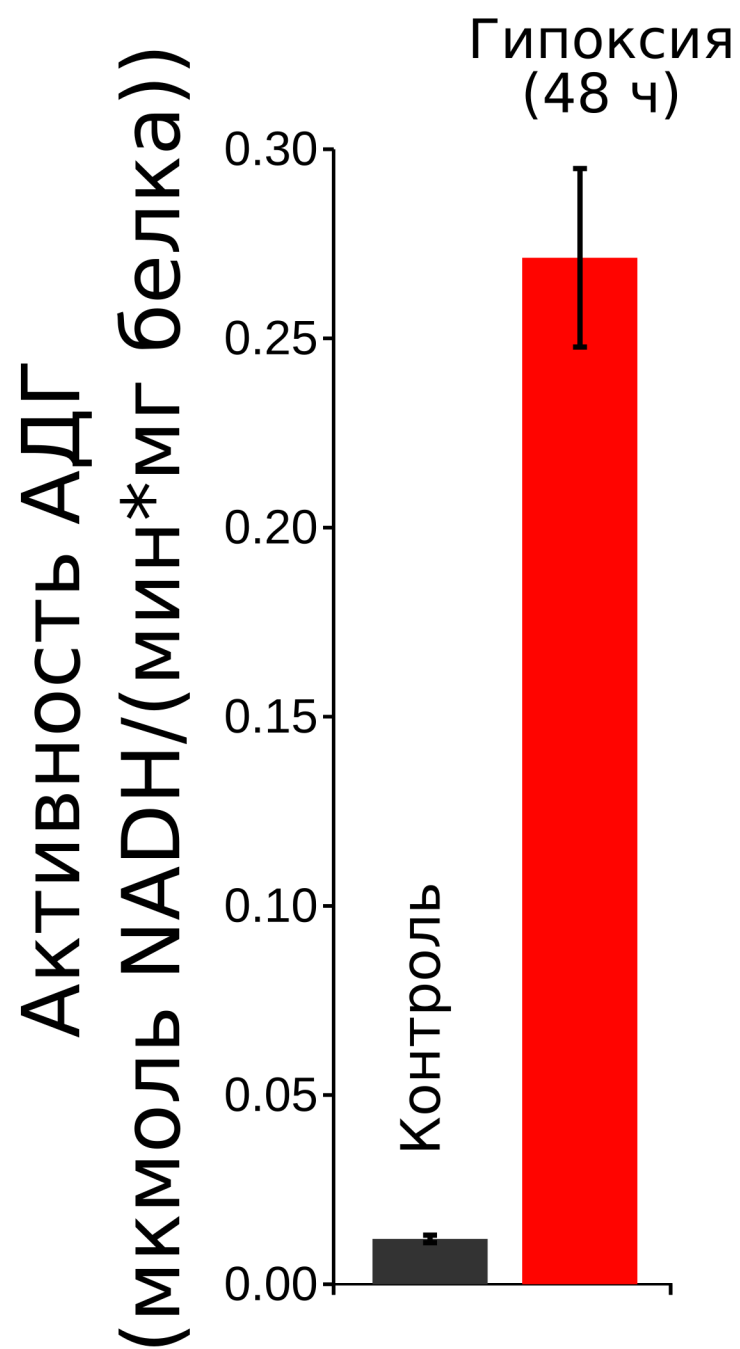
Условия гипоксии создавались прекращением перемешивания

Результаты

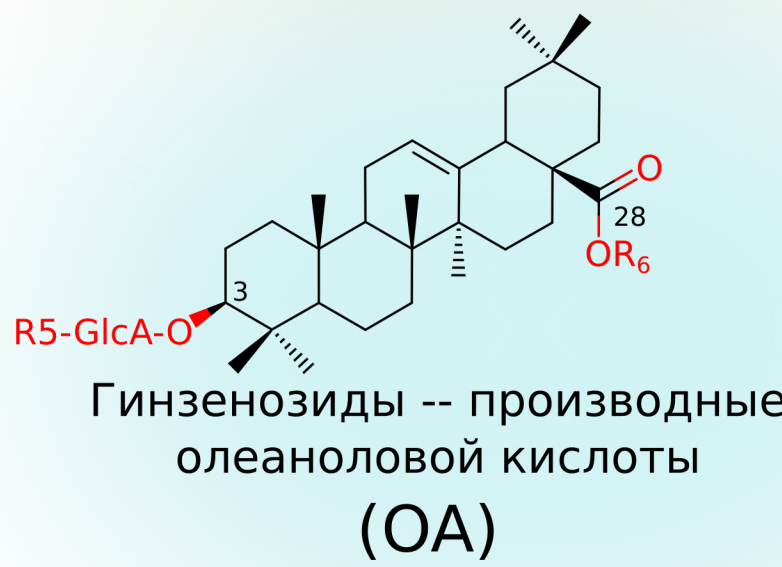
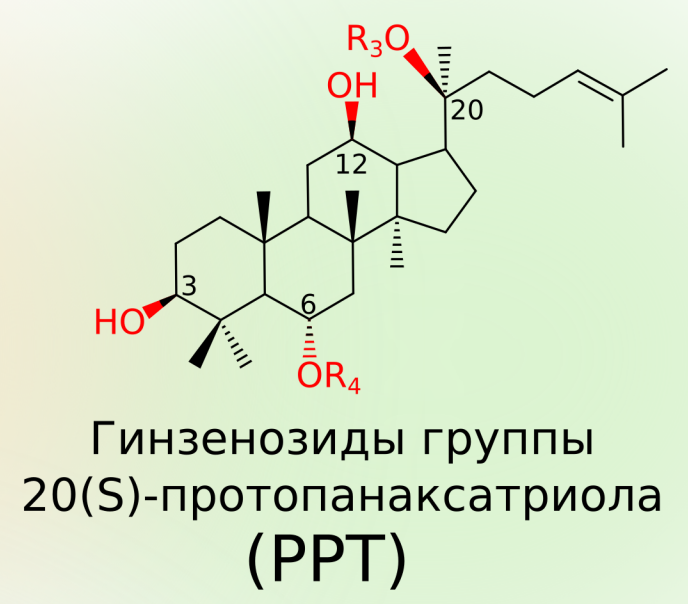
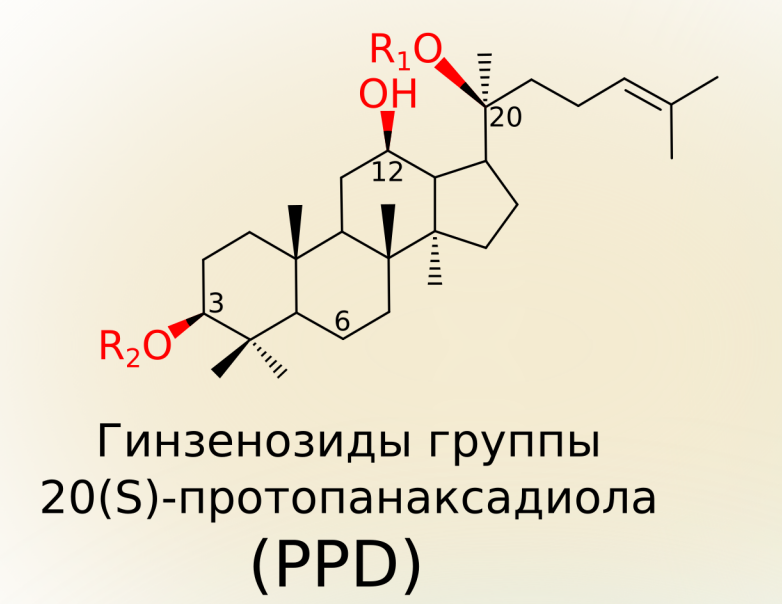
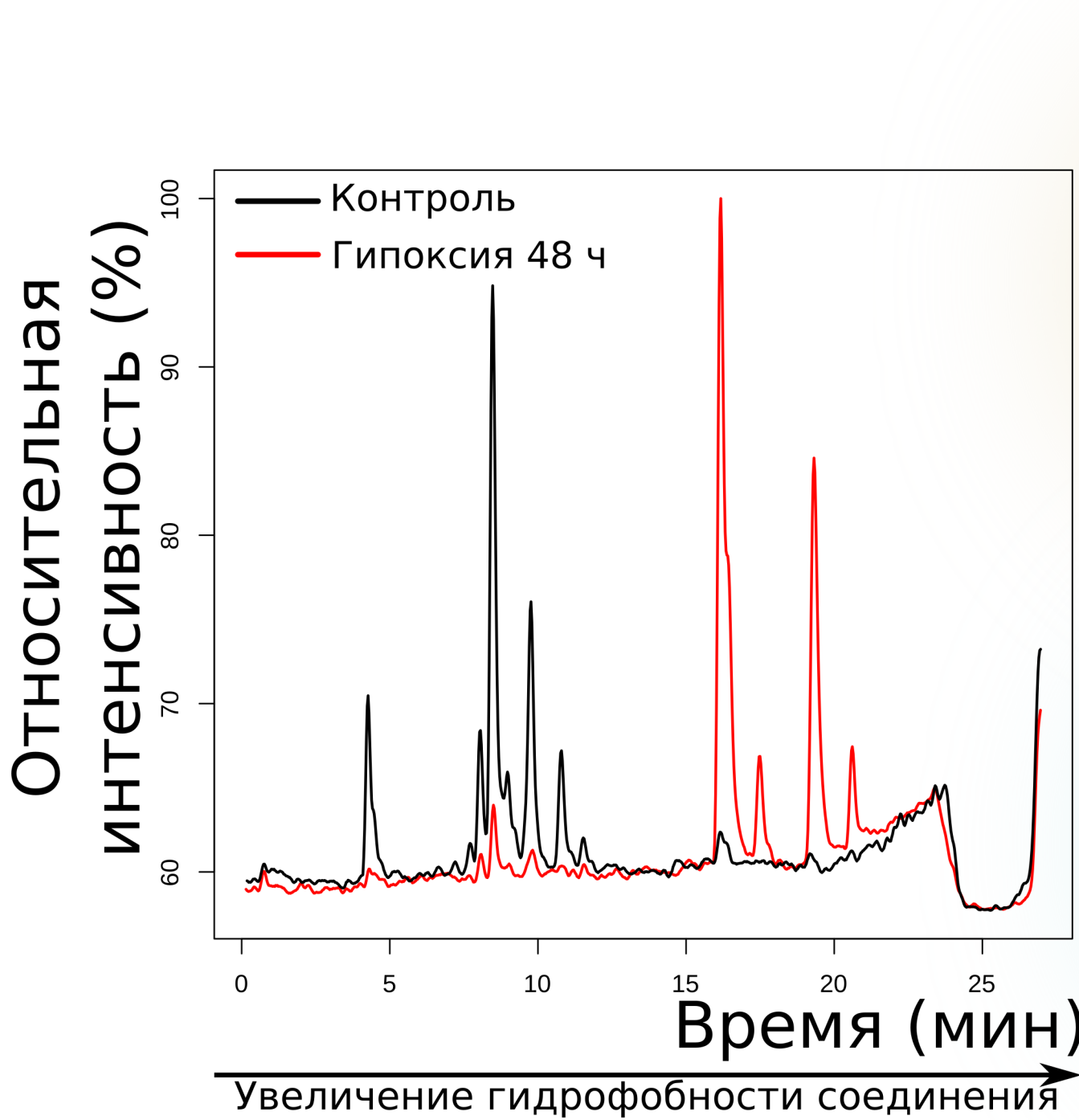


При гипоксии наблюдалось снижение жизнеспособности клеток и накопления биомассы, вплоть до полной гибели клеток через 72 часа.

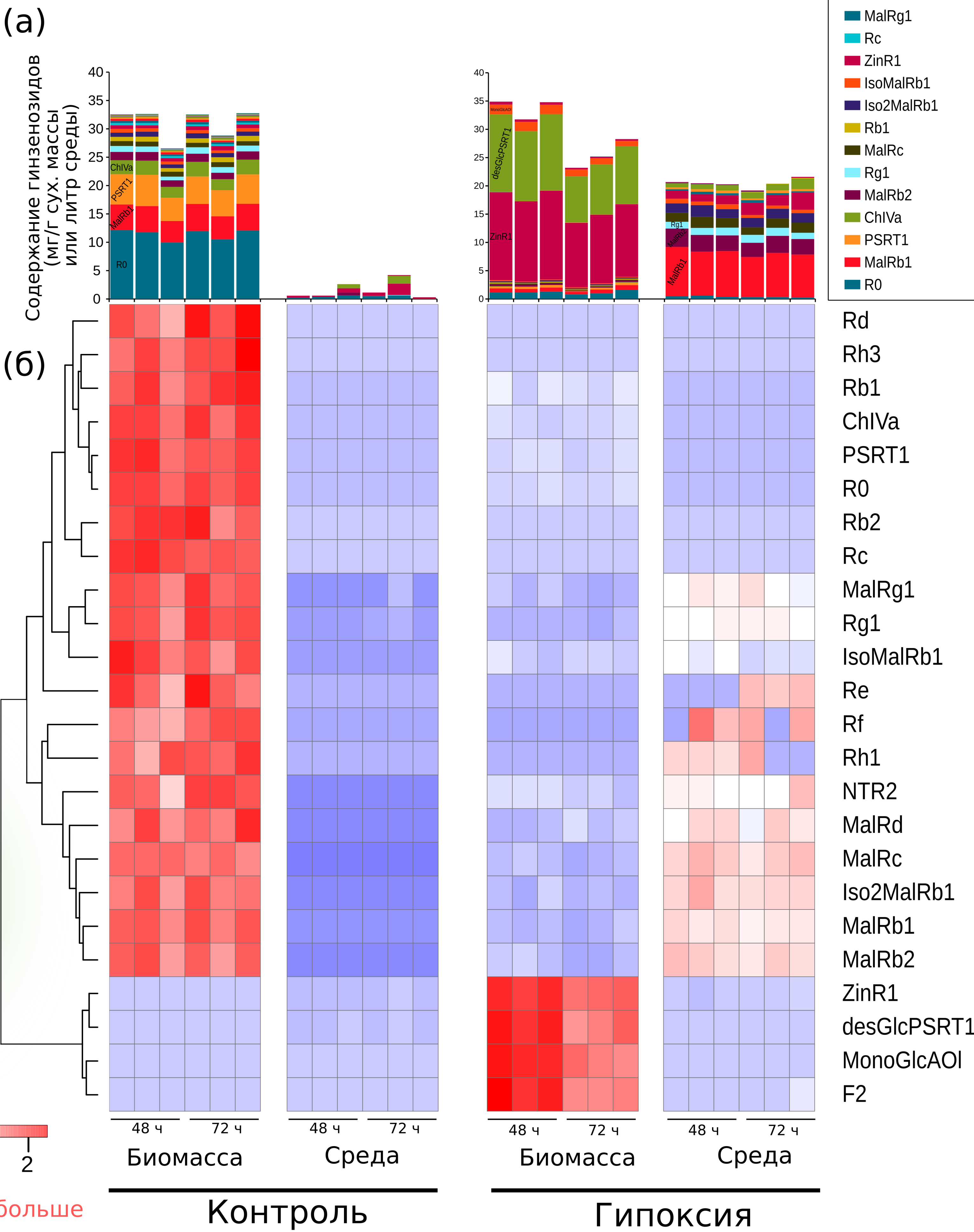
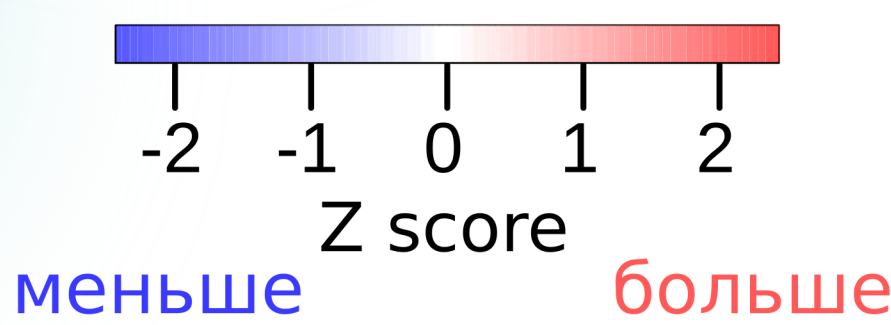
Представлены средние по 3-м колбам значения $\pm$ ст.откл. Жизнеспособность клеток определяли с помощью прижизненного проникающего красителя феносафранина (0,1% p-p).



В клетках, подверженных гипоксии, наблюдалась повышенная активность алкоголь-дегидрогеназы.



R1-6 - углеводный фрагмент из 1-го или 2-х остатков глюкозы, сиалозы, арабинозы или рамнозы
GlcA - глюкуроновая кислота



Гипоксия вызвала снижение в биомассе клеток общего количества более гидрофильных соединений и увеличение количества более гидрофобных.

Представленны характерные хроматограммы (ВЭЖХ-МС), отражающие общее содержание гинзенозидов в биомассе клеток через 48 часов после прекращения перемешивания и в контрольном варианте. (Разделение в режиме градиентного элюирования. Подвижная фаза – 0,05% водный раствор муравьиной кислоты и ацетонитрил).

При гипоксии резко увеличилось количество OA гинзенозидов со свободной C28-карбоксильной группой (ZinR1, desGlcPSRT1 и MonoGlcAOI) на фоне снижения гликозилированных по этому положению олеананов (R0, PSRT1, ChlVa). Снижение в биомассе количества PPT гинзенозидов (Re, Rg1, Rf, Rh1, NTR2) происходило в основном за счет выхода в среду культивирования, а PPD гинзенозидов (Rb1, Rb2, Rc, Rd, Rh3) за счет частичного гидролиза их сахарных фрагментов с образованием F2. Также PPD гинзенозиды обнаруживались в биомассе и среде в виде защищенных малонильной меткой производных.

Показано содержание гинзенозидов в сухой биомассе и среде в отдельных колбах (n = 3) через 48 и 72 часа после прекращения перемешивания. (а) Абсолютное содержание и соотношение между разными гинзенозидами. (б) Тепловая карта изменений содержания каждого гинзенозида в отдельности при изменении условий.

Заключение

Гипоксия приводит к значительному изменению в составе гинзенозидов в биомассе клеток без заметного снижения их общего количества (в расчете на сухую массу). За счет гидролиза сахарных компонентов происходит обогащение более гидрофобными соединениями. Состав гинзенозидов, выделяемых при гипоксии в культуральную среду, отличается от состава гинзенозидов в биомассе.

[1] Han, J., & Zhong, J.-J. (2003). Effects of oxygen partial pressure on cell growth and ginsenoside and polysaccharide production in high density cell cultures of *Panax notoginseng*. *Enzyme and Microbial Technology*, 32(3-4), 498–503.