

Авдеева Е.И., Летута У.Г.

Оренбургский государственный университет

E-mail: avdeevaelenaosu@yandex.ru

ВЛИЯНИЕ МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА КОЛОНИЕОБРАЗУЮЩУЮ СПОСОБНОСТЬ *ESCHERICHIA COLI* В ПРИСУТСТВИИ ИЗОТОПОВ МАГНИЯ

Поиск «первичного приёмника» внешнего магнитного поля в живых организмах – интригующая научная проблема биологии, физики и химии. Магнитно-изотопные эффекты в биохимии свидетельствуют о чувствительности ферментативных систем к магнитным моментам атомных ядер изотопов. Цель данной работы – обнаружить эффекты совместного действия магнитного изотопа магния и внешнего постоянного магнитного поля на бактериальные клетки *E.coli*.

Экспериментально доказано совместное влияние слабых магнитных полей и ядерного спина магнитного изотопа ^{25}Mg на колониобразующую способность клеток *E.coli*: в постоянных внешних магнитных полях 0–25 мТл количество КОЕ бактерий, обогащенных магнитным изотопом магния ^{25}Mg , оказывается выше по сравнению с клетками, обогащенными немагнитными изотопами магния $^{24,26}\text{Mg}$ и природным магнием $^*\text{Mg}$. В магнитном поле 76 мТл количество КОЕ бактерий, обогащенных магнитным изотопом магния, оказывается максимально.

Обнаруженные магнитно-полевые эффекты и магнитно-изотопные эффекты в бактериях *E.coli* свидетельствуют о наличии магниточувствительных стадий ферментативных процессов в живых организмах.

Ключевые слова: магнитное поле, бактерии *E. coli*, колониобразующая способность, магнитный изотоп, магний, ферментативные процессы.

Влияние магнитных полей на живые организмы – проблема, которая волнует научные умы уже не одно десятилетие. Значительный масштаб этой проблемы связан не только с большим многообразием видов живых организмов, но и с особенностями проявления магнитно-полевых эффектов на молекулярном, клеточном и организменном уровнях. Особый интерес представляют слабые магнитные поля, соизмеримые с магнитным полем Земли. Некоторые из существующих механизмов влияния магнитных полей, имеют под собой прочную экспериментальную базу, другие – являются лишь гипотезой. Однако, универсального механизма, способного объяснить процессы, происходящие в клетке при воздействии магнитного поля – постоянного, переменного или импульсного, – пока не предложено. И основная сложность состоит не в возможности создания такого механизма и его экспериментального подтверждения, а наличие огромного количества экспериментальных данных, зачастую противоречащих друг другу. Например, в переменном поле 2–6 Гс (50 Гц) скорость транскрипции *lac* в *E. coli* значительно меняется: сначала она подавляется (3 Гс), а потом стимулируется (5,5 Гс) [1].

Магнитное поле вызывает снижение роста и максимального количества бактерий *S. mutans*, *S. aureus* при культивировании в анаэробных

условиях, а в аэробных – увеличение. Однако, никаких эффектов не было обнаружено для бактериальных культур *E.coli* [2]. Воздействие постоянного магнитного поля может увеличивать устойчивость к антибиотикам бактериальной культуры [3] и колониобразующую способность [4]. И ещё в нескольких сотнях работ по магнитобиологии можно найти совершенно разные магнитно-полевые эффекты только для бактерий, не говоря уже о других организмах. Печальная особенность большинства работ – отсутствие системного подхода и анализа соотношения воздействие-отклик [5].

Самый вероятный претендент на «первичный приёмник» внешнего магнитного поля в живых организмах – радикальные или ион-радикальные ферментативные реакции. Внешнее магнитное поле способно изменять спиновую мультиплетность ион-радикальной пары (ИРП), влияя на выход продуктов. В случае с ферментативными реакциями, если предположить наличие стадий с образованием ИРП в активном сайте, эффективность фермента будет зависеть от включения внешнего магнитного поля или участия в ион-радикальной реакции партнёра с наличием магнитного момента – магнитного изотопа химического элемента. Открытия в области биохимической изотопии показали, что ферментативный синтез АТФ и ДНК идёт через стадию образования

ион-радикальной пары, дальнейшая эволюция которой зависит от участия ядерного спина магнитного изотопа ^{25}Mg и влияния внешнего магнитного поля. В экспериментах *in vitro* было обнаружено, что магнитный изотоп магния ^{25}Mg , а также цинка ^{67}Zn и кальция ^{43}Ca в 2–4 раза ускорял синтез АТФ фосфорилирующими ферментами (АТФ-аза, креатинкиназа, глицерофосфаткиназа, пируваткиназа) и замедлял синтез ДНК [6]–[10]. Включение внешнего магнитного поля увеличивает эффективность магнитного изотопа [10]–[12]. Поэтому открытие магнитного изотопного эффекта в ферментативных реакциях означает, что магнитное поле тоже способно влиять на аналогичные ион-радикальные ферментативные процессы.

В теоретических работах [13] показано, что изменение функционального состояния конкретного живого организма при действии на него внешних магнитных полей будет зависеть от внутриклеточного магнитно-изотопного содержания химических элементов; от степени участия таких изотопов в физико-химических стадиях ферментативных процессов; от условий протекания ферментативной реакции, прямым или косвенным образом влияющих на её константу скорости. Первые эксперименты *in vivo* показали, что магнитный изотоп ^{25}Mg , находясь в составе живых клеток, влияет на их рост, развитие и жизнедеятельность, а его биологические эффекты отличаются от эффектов немагнитных изотопов $^{24,26}\text{Mg}$ [14]. Включение внешнего постоянного магнитного поля способно увеличивать эффективность магнитного изотопа магния ^{25}Mg [15]. Обнаруженные эффекты свидетельствуют о влиянии магнитных моментов атомных ядер изотопа ^{25}Mg на жизнедеятельность целого организма через последовательность внутриклеточных ферментативных процессов, в том числе синтеза АТФ.

Цель данной работы – обнаружить эффекты совместного действия магнитного изотопа магния и внешнего постоянного магнитного поля на колониеобразующую способность бактериальных клеток *E.coli*. Особенность данной работы состоит в использовании широкого диапазона слабых магнитных полей – 0–100 мТл, – а также детального исследования магнитно-полевых эффектов в более узком диапазоне 0–20 мТл.

Материалы и методы

В качестве объекта исследований использовалась культура клеток *Escherichia coli* – музейный штамм K12TG1. Бактерии *E.coli* выращивались в минимальных синтетических питательных средах М9, отличающиеся только изотопной формой содержащегося в сульфате магния – немагнитные ^{24}Mg , ^{26}Mg , магнитный ^{25}Mg и природный изотоп $^*\text{Mg}$ магния [14]. После приготовления синтетической питательной среды М9 уровень pH был одинаковый для всех сред во всех экспериментальных сериях, равный $\text{pH}=6.85\pm 0.15$. Все изотопы магния добавлялись в среды в виде сульфата магния MgSO_4 ; для всех изотопов концентрации строго контролировались и составляли 2.2 ммоль/л. Для приготовления сульфатов использовались изотопно-чистые оксиды ^{24}MgO , ^{25}MgO и ^{26}MgO производства ФГУП «Электрохимприбор» с рекордно высоким изотопным обогащением 99.8, 98.8 и 97.7 атомных процентов, соответственно.

Музейный штамм *Escherichia coli* предварительно инкубировался в Lb-бульоне (Sigma Aldrich Co.) в течение 7 часов при 37 °С. После клетки *E.coli* пересеивались в среды М9 с ^{24}Mg , ^{25}Mg , ^{26}Mg , соответственно. В качестве контроля использовалась питательная среда с природным содержанием изотопов $^*\text{Mg}$, то есть смесь изотопов в их природном соотношении. После этого образцы помещались в постоянное магнитное поле, которое создавалось электромагнитом производства Takeda Richen Ltd, и выдерживались в течение 7 часов при постоянном термостатировании 37 °С. Диапазон выбранных слабых магнитных полей – 0–100 мТл, а также 0–25 мТл. Бактерии культивировались одновременно в 96 контрольных точках, соответствующих 16 стационарным магнитным полям для диапазона 0–100 мТл и 27 стационарным полям для диапазона 0–25 мТл. Магнитное поле в этих точках измерялось с помощью миллитесламетра ТП2-2У.

В качестве основного показателя роста была выбрана колониеобразующая способность бактерий, которая измерялась после 7 часов инкубирования клеток в постоянном внешнем магнитном поле. При измерении колониеобразующих единиц (КОЕ) применялся метод серийных разведений: использовались три разведения

среды, содержащей клетки *E. coli*, в физиологическом растворе (0,85% водный раствор NaCl) [14]. Клетки *E. coli*, выращиваемые на средах М9 с магнитным и немагнитными изотопами магния и разбавленные в соответствующих концентрациях, высевались на твёрдую питательную среду Lb-агар в чашки Петри. После 16 часов инкубации при температуре 37°С производился подсчёт колониеобразующих единиц.

Часть экспериментов проводилось по методике «double blind» в целях получения достоверных результатов. Экспериментальные данные обрабатывались с помощью прикладного программного пакета Origin 8.0 с применением критерия Стьюдента.

Обсуждение результатов

В результате проведения 12 экспериментальных серий для диапазона 0–100 мТл и 10 для диапазона 0–25 мТл были получены магнитно-полевые экспериментальные зависимости количества КОЕ бактерий *E. coli*, культивируемых на средах с изотопами магния. Результаты представлены на рисунках 1–2.

На рисунке 1 представлены данные магнитно-полевой зависимости КОЕ в широком диапазоне 0–100 мТл. Обнаружены два интересных эффекта внешнего магнитного поля: в диапазоне 0–4,5 мТл и 76–93 мТл. Культивирование бактерий, обогащенных магнитным изотопом магния ²⁵Mg, во внешнем постоянном магнитном поле диапазона 76–93 мТл приводит к увеличению количества КОЕ в 4 раза выше по сравнению с бактериями, выросшими в присутствии немагнитных изотопов. Притом в магнитном поле 76 мТл количество КОЕ бактерий, обогащенных магнитным изотопом магния максимально. Ключевую роль в таком гигантском магнитно-полевом эффекте играет, очевидно, увеличение скорости синтеза АТФ благо-

даря участию ядерного магнитного спина ²⁵Mg в ферментативном ион-радикальной реакции и индуцированию синглет-триплетной конверсии за счёт механизма сверхтонкого взаимодействия, что соответствует литературным данным [6]. Необходимо отметить, что количество КОЕ бактерий, культивируемых на среде М9 с природным соотношением изотопов магния, также выше по сравнению с клетками *E. coli*, культивируемыми на среде с немагнитными изотопами, но ниже, чем с магнитным изотопом магния.

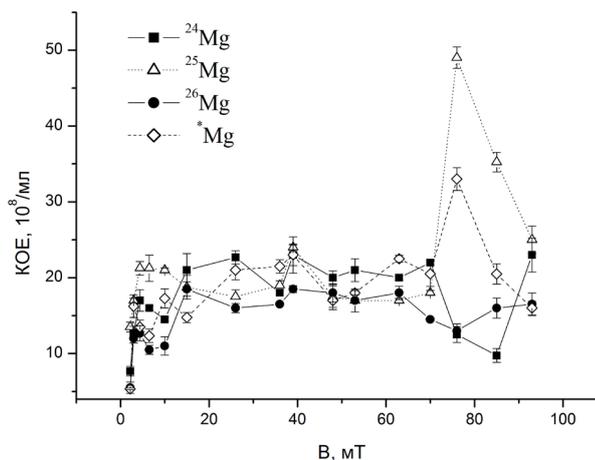


Рисунок 1. Магнитно-полевые зависимости КОЕ клеток *E. coli*, обогащенных изотопами магния ²⁴Mg, ²⁵Mg, ²⁶Mg, *Mg. Диапазон 0-100 мТл

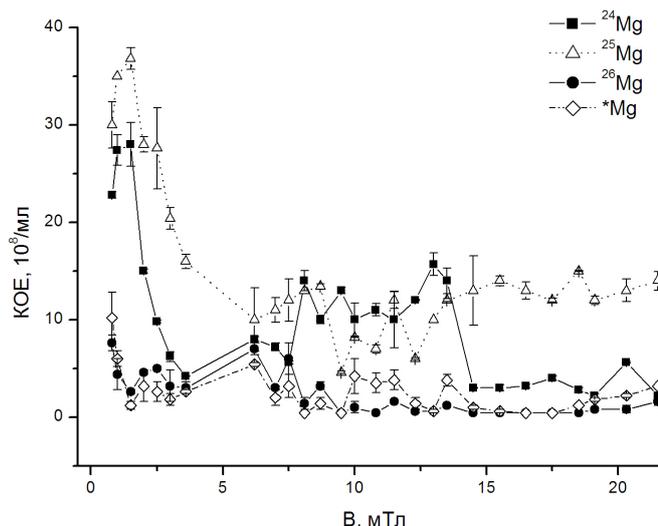


Рисунок 2. Магнитно-полевые зависимости КОЕ клеток *E. coli*, обогащенных изотопами магния ²⁴Mg, ²⁵Mg, ²⁶Mg, *Mg. Диапазон 0-25 мТл

Это связано с 10,11% содержанием магнитного изотопа магния ^{25}Mg в природном соотношении стабильных изотопов.

На рисунке 1 видно, что колониеобразующая способность бактерий увеличивается в 2–3 раза при возрастании магнитного поля от 0 до 4,5 мТл для всех бактерий независимо от изотопа, содержащегося в питательной среде. Однако сделать выводы о достоверности такого эффекта сложно, потому что особенности экспериментальной установки позволяют одновременно исследовать всего лишь несколько точек, соответствующих 6 стационарным магнитным полям. Модификация установки позволила повысить количество контрольных точек рассматриваемого диапазона до 27 стационарных магнитных полей. Результаты исследования совместного влияния изотопов магния и внешнего постоянного магнитного поля на КОЕ клеток *E.coli* в диапазоне 0–25 мТл представлены на рисунке 2.

На рисунке 2 видно, что общая тенденция увеличения колониеобразующей способности для всех бактерий сохраняется в диапазоне 0–4,5 мТл. Однако количество КОЕ клеток, выросших на среде М9 с ^{25}Mg и обогащенных этим изотопом, оказывается выше по сравнению с другими бактериями *E.coli* вплоть до 25 мТл. Это говорит о стимулирующем действии магнитных моментов атомных ядер ^{25}Mg на ферментативные процессы, ответственные за пролиферацию клеток. Увеличение количества КОЕ бактерий, обогащенных немагнитными изотопами $^{24,26}\text{Mg}$ и природным магнием $^*\text{Mg}$, связано, вероятно, с влиянием внешнего магнитного поля на внутриклеточные ферментативные ион-радикальные процессы с участием других магнитных ядер, например, ^{31}P . Внутриклеточная концентрация таких ядер будет примерно одинакова для всех бактериальных культур ввиду идентичности условий роста.

Интересный и пока необъяснимый магнитно-полевой эффект обнаружен в диапазоне 8–14 мТл для бактерий *E. coli*, выращенных на среде с содержанием немагнитного изотопа магния ^{24}Mg : количество КОЕ оказывается выше в 3,5–4 раза по сравнению со средним значением в диапазоне 5–25 мТл.

Заключение

Количество КОЕ бактерий *E.coli*, обогащенных магнитным изотопом магния ^{25}Mg , оказывается выше по сравнению с клетками, обогащенными немагнитными изотопами магния $^{24,26}\text{Mg}$ и природным магнием $^*\text{Mg}$ в постоянных внешних магнитных полях 0–25 мТл. Это свидетельствует о стимулирующем действии магнитных моментов атомных ядер ^{25}Mg на ферментативные процессы, ответственные за пролиферацию клеток. В диапазоне 0–4,5 мТл колониеобразующая способность увеличивается практически для всех бактериальных клеток, что связано, вероятно, с влиянием внешнего магнитного поля на внутриклеточные ферментативные ион-радикальные процессы с участием других магнитных ядер, например, ^{31}P .

Колониеобразующая способность клеток *E.coli*, выросших на среде М9 с магнитным изотопом ^{25}Mg , оказывается выше по сравнению с бактериями, культивируемых на среде с немагнитными изотопами $^{24,26}\text{Mg}$, при действии внешнего постоянного магнитного поля в диапазоне 76–93 мТл. При этом в магнитном поле 76 мТл количество КОЕ бактерий, обогащенных магнитным изотопом магния, максимально. Это связано с увеличением скорости синтеза АТФ благодаря участию ядерного магнитного спина ^{25}Mg в ферментативной ион-радикальной реакции и индуцированию синглет-триплетной конверсии за счёт механизма сверхтонкого взаимодействия.

10.10.2015

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Правительства Оренбургской области: Проект №10-04-96083-р_урал_а.

Список литературы:

1. Aarholt E., Flinn E., Smith C. Phys. Med. Biol., 27, 606 (1982).
2. Kohno M, Yamazaki M, Kimura I, Wada M.. Effect of static magnetic fields on bacteria: Streptococcus mutans, Staphylococcus aureus, and Escherichia coli. Pathophysiology 7:143–148 (2000).
3. Stansell M, Winters W, Doe R, Dart B. Increased antibiotic resistance of *E. coli* exposed to static magnetic fields. Bioelectromagnetics 22:129–137 (2001).
4. Horiuchi S, Ishizaki Y, Okuno K, Ano T, Shoda M. Drastic high magnetic field effect on suppression of *Escherichia coli* death. Bioelectrochemistry 53:149–153 (2001).

5. Galland P., Pazur A. J. Plant Res., 118, 371 (2005)
6. Бучаченко А.Л., Успехи химии, 83(1), 1(2014).
7. Buchachenko A.L., Kuznetsov D.A., Arkhangelsky S.E., Orlova M.A., Markaryan A.A., Cell Biochem. Biophys., 43, 243(2005).
8. Buchachenko A.L., Magnetic Isotope Effect in Chemistry and Biochemistry. Nova Science Publishers, New York, 2009, 141 p.
9. Buchachenko A.L., Kuznetsov D.A., Breslavskaya N.N., Chem Rev., 112, 2042 (2012).
10. Buchachenko A.L., Orlov A.P., Kuznetsov D.A., Breslavskaya N.N., Nucleic Acids Res., 41, 8300 (2013).
11. Buchachenko A.L., Orlov A.P., Kuznetsov D.A., Breslavskaya N.N., Chem. Phys. Lett., 586, 138 (2013).
12. Buchachenko A. L., Kuznetsov D. A. , J. Am. Chem. Soc., 130, 2868 (2008).
13. Шевченко У.Г., Бердинский В.Л., Химическая физика, , 30(6), 78 (2011) [U. G. Shevchenko (Letuta), V. L. Berdinsky, Russ. J. of Phys. Chem. B, 5(3), 519 (2011)].
14. Шевченко У.Г., Авдеева Е.И., Бердинский В.Л., Химическая физика, 31(7), 62 (2012) [U. G. Shevchenko, E. I. Avdeeva, V. L. Berdinsky, Russ. J. of Phys. Chem. B, 6(4), 531 (2012),].
15. Летута У. Г., Авдеева Е. И., Бердинский В. Л., Изв. АН. Сер. Хим., 5, 1102 (2014).

Сведения об авторах

Авдеева Елена Ивановна, заведующий лабораторией кафедры биофизики и физики конденсированного состояния физического факультета Оренбургского государственного университета
E-mail: avdeevaelenaosu@yandex.ru

Летута Ульяна Григорьевна, старший преподаватель кафедры биофизики и физики конденсированного состояния физического факультета Оренбургского государственного университета
кандидат физико-математических наук
E-mail: shevulyana@yandex.ru

460018, г. Оренбург, пр-т Победы 13