

DOI: 10.26693/jmbs02.04.155
 УДК 579.222: 577.124.3: 577.24

Валішкевич Б. В.

УЧАСТЬ СИГНАЛЬНОГО ШЛЯХУ TOR В РЕГУЛЯЦІЇ МЕТАБОЛІЗМУ *Saccharomyces cerevisiae* ЗА ОБМЕЖЕННЯ ВУГЛЕВОДІВ

Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника,
 кафедра біохімії та біотехнології, Івано-Франківськ

v.bohdana@ukr.net

Мета роботи полягала в дослідженні впливу обмеження вуглеводів, на дріжджі *S. cerevisiae*, дефектні за різними ділянками TOR-сигнального шляху ($\Delta tor1$, $\Delta tor2$ та $\Delta tor1\Delta tor2$), за умов їхнього росту в середовищі з глюкозою чи фруктозою. *Методи*. Оцінка метаболічної активності та активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. *Результати*. Показано, що за обмеження вуглеводів (0,1% глюкоза або фруктоза в середовищі культивування) метаболічна активність загалом є вищою, а активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази – нижчою у мутантних клітин, порівняно з вихідним штамом. *Висновки*. Шлях TOR залучений у відповідь на обмеження вуглеводів, проте ця відповідь є специфічною для кожного штаму та залежить від типу вуглеводу в середовищі культивування.

Ключові слова: *Saccharomyces cerevisiae*, глюкоза, фруктоза, сигнальний шлях TOR, карбонільний/оксидативний стрес.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Роботу виконано згідно з планом науково-дослідної роботи «Фізіолого-біохімічні аспекти адаптації живих організмів до несприятливих умов довкілля», № держ. реєстрації 0112U000061.

Вступ. Нестача живильних речовин та енергії чергується з періодами їхньої достатньої кількості у клітині, яка змушена переключати стадії анаболізму на катаболізм та навпаки [19]. Одним з важливих білків, який регулює цей перехід, є протеїнкіназа TOR (target of rapamycin). Сигнальний шлях TOR, вперше описаний в *Saccharomyces cerevisiae*, є висококонсервативним регулятором багатьох функцій, зокрема він контролює ріст та проліферацію клітин, метаболізм та стійкість до стресу різноманітних організмів: від дріжджів до людини [12]. Проте, можливий взаємозв'язок TOR-сигнального шляху та вуглеводів, які є основним джерелом енергії та карбону, залишається вивченим недостатньо.

Карбонільний/оксидативний стрес виникає внаслідок збільшення рівня активних карбонільних

сполук (АКС) та активних форм кисню (АФК). Небезпека цих сполук полягає у їхній здатності брати участь у неензиматичних перетвореннях, які майже не піддаються контролю в клітині. До таких процесів належать вільнорадикальне окислення та неензиматичне глікозилювання (глікація).

Останніми роками значно зросло споживання харчової фруктози. Фруктоза, порівняно з глюкозою, швидше включається в метаболізм і не потребує інсуліну для засвоєння, проте є активнішою у згаданих неензиматичних процесах [2, 3].

Інгібування ростових сигналів через обмеження калорій або інактивацію внаслідок мутації консервативних інсулінового та TOR-сигнального шляху продовжує тривалість життя усіх еукаріотичних організмів: від дріжджів до людини [10]. Збільшення тривалості життя за рахунок блокування ростових сигналів відбувається паралельно з активацією систем захисту від оксидативного стресу, внаслідок чого знижується рівень АФК та окисного пошкодження макромолекул. Це добре узгоджується із вільнорадикальною теорією старіння, яка ґрунтується на тому, що окисні пошкодження макромолекул є основним визначником тривалості життя [6, 11].

Мета роботи – дослідження впливу обмеження вуглеводів на метаболічну активність та активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази штамів *S. cerevisiae*, дефектних за різними ділянками TOR-сигнального шляху, за умов їхнього росту в середовищі із глюкозою чи фруктозою.

Об'єкт дослідження – адаптивна відповідь дріжджів, дефектних за білками TOR1 і TOR2, на карбонільний/оксидативний стрес, викликаний обмеженням вмістом моносахаридів.

Матеріали і методи дослідження. Штами *S. cerevisiae* отримані з лабораторії професора Michael Hall (Базельський університет, Швейцарія): стандартний лабораторний штам JK9-3da (*MATa leu2-3,112 ura3-52 rme1 trp1 his4 GAL+ HMLa*) та його похідні MH349-3d (JK9-3da, *tor1::LEU2-4*), SH121 (JK9-3da, *tor2::ADE2-3/YCplac111::tor2-21ts*)

і SH221 (JK9-3da, *tor1::HIS3-3 tor2::ADE2-3/ YCplac111::tor2-21ts*).

Культури дріжджів вирощували при 28 °С на шейкері (150 коливань за хвилину) протягом 24 год у середовищі, яке містило 2% ферментативного пептону, 1% дріжджового екстракту та 0,1% глюкози чи 0,1% фруктози. Початкова кількість клітин становила 75×10^6 кл/мл.

Безклітинні екстракти отримували дезінтеграцією клітин на вортекс-міксері зі скляними кульками діаметром 450-500 мкм («Sigma Chemical Co», США) в середовищі гомогенізації, яке містило 50 мМ калій-фосфатного буферу (КФБ, рН 7,0), 0,5 мМ EDTA і 1 мМ фенілметилсульфонілфториду. Скляні кульки і незруйновані рештки клітин осаджували при 13000 г протягом 15 хв.

Для визначення **метаболічної активності** дріжджів використовували барвник 2,3,5-трифенілтетразолію хлорид. До суспензії клітин додавали 0,5% водний розчин барвника, та інкубували протягом 20-ти годин. Метаболічно активні клітини здатні відновлювати барвник до нерозчинного у воді формагану червоного кольору. Екстрагування формагану здійснювали під час руйнування клітин в присутності етанол-ацетонової суміші (1:2) [16]. Оптичне поглинання барвника реєстрували при довжині хвилі 485 нм. Результати представлені як $A_{485}/10^8$ клітин.

Активність **глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г6ФДГ, КФ 1.1.1.49)** визначали, реєструючи відновлення NADP на спектрофотометрі за довжини хвилі 340 нм [18]. Середовище містило 50 мМ КФБ (рН 7,0), 0,5 мМ EDTA, 5 мМ $MgCl_2$, 0,2 мМ NADP, 2 мМ глюкозо-6-фосфату та 25-50 мкл супернатанту. Реакцію починали внесенням супернатанту. Для розрахунку використовували молярний коефіцієнт екстинкції для NADPH $6,22 \text{ мМ}^{-1}\text{см}^{-1}$ [9].

Концентрацію **протеїну** в пробах визначали за його зв'язуванням з Кумасі яскраво-синім G-250, використовуючи як стандарт альбумін сироватки бика [4]. Дані представлено як середні значення 4-8 незалежних визначень \pm похибка середнього. Статистичну обробку здійснювали, використовуючи критерій Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення.

Культивування дріжджів у присутності 0,5% глюкози, відображає умови помірного голодування, яке збільшує тривалість життя [15, 24]. Оскільки активність метаболізму залежить його від реорганізації за стресових умов, яким може бути дефіцит живильних речовин, та впливає на тривалість життя [5, 23], нами було досліджено метаболічну активність дріжджів в присутності низьких концентрацій вуглеводів.

Відомо, що кількість мітохондрій у дріжджів, вирощених за умов обмеження вуглеводів, є такою ж, як в клітин, вирощених у багатому середовищі. Проте, властивості мітохондрій, виділених із голодуючих клітин, свідчать про посилення дихання та підвищення концентрації АФК, без збільшення генерації АТФ та активації антиоксидантної системи [22].

За умов культивування клітин в присутності 0,1% вуглеводів (**рис. 1**) у більшості випадків показник є вищим в 1,7-5,7 рази мутантів, порівняно з вихідним штамом.

Варто зауважити, що у батьківського штаму та одинарних мутантів показник є вищим в 1,2-6,3 рази у клітинах, які росли у присутності фруктози, порівняно з клітинами, які росли у середовищі з глюкозою.

З часом росту метаболічна активність клітин знижується при їх рості у середовищі з 0,1% глюкозою, але у середовищі із фруктозою така ж тенденція спостерігається тільки у штаму *Δtor2*. У вихідного

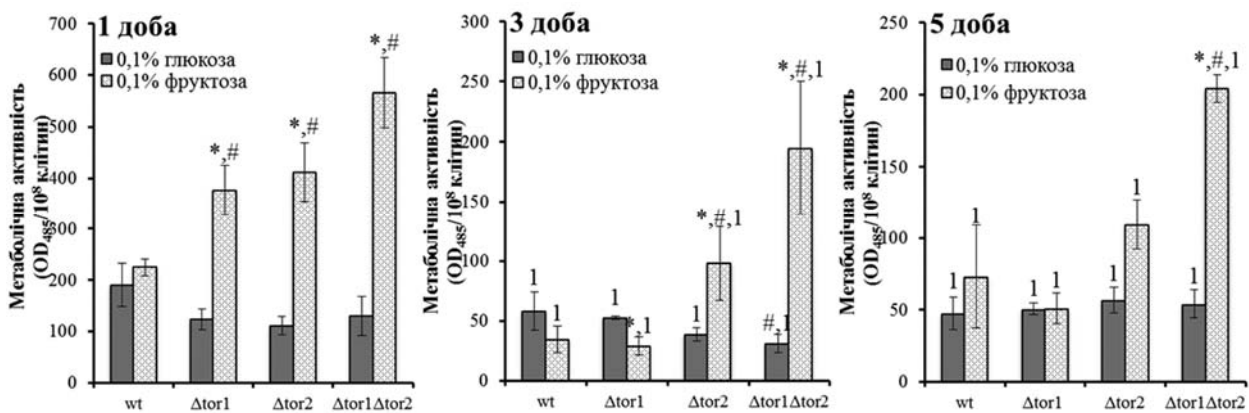


Рис. 1. Метаболічна активність *S. cerevisiae* за росту в присутності 0,1% глюкози чи фруктози ($M \pm m$, $n = 4-8$). Вірогідно відмінне від відповідних значень, отриманих у присутності глюкози, *на першу добу росту та #для батьківського штаму (wt) з $P < 0,05$

штаму, одинарного мутанту $\Delta tor1$, та подвійного мутанту $\Delta tor1\Delta tor2$ метаболічна активність знижується до 3 доби росту, але вже на 5-ту добу підвищується майже до рівня 1 доби, а у штаму $\Delta tor1\Delta tor2$ метаболічна активність на 5 добу росту є найвищою.

Дослідження, проведені на дріжджах, червах, мухах і мишах показали, що старіння жорстко визначається і регулюється певними шляхами внутрішньоклітинних сигналів. Першою чергою, це шлях, який веде від інсулінового рецептора до TOR1, який відповідає за обмежене живлення організму. Другий шлях також зачіпає TOR1, але починається від мітохондріального ланцюга переносу електронів. В останні роки показано, що обидва ці шляхи взаємодіють один з одним [14].

Нещодавно описана безпосередня роль TOR1 в посиленні мітохондріального окисного фосфорилування, а також роль TOR1 в регуляції продукції вільних радикалів мітохондрією [13, 17]. Таким чином, з одного боку, вільні радикали регулюють активність TOR1, а з іншого – TOR1 регулює продукцію вільних радикалів мітохондрією і спрягає гліколіз із метаболізмом мітохондрії [14].

Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа є одним з ключових ферментів пентозо-фосфатного шляху та відіграє важливу роль в антиоксидантному захисті [20].

Рисунок 2 демонструє активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази у клітин, вирощених у середовищі з 0,1% моносахаридами. У більшості випадків у мутантних штамів активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази є в 1,5-3 рази нижчою, порівняно із вихідним штамом. Клітини, вирощені у середовищі з фруктозою, мали в 1,3-4,8 рази нижчу активність ферменту, ніж такі, у присутності глюкози у більшості випадків.

В усіх досліджуваних штамів у присутності глюкози, та у вихідного і подвійного мутантного штаму в присутності обох моносахаридів протягом росту культур спостерігається тенденція до зниження активності ферменту. У штаму $\Delta tor1$ активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази була нижчою на 3-тю добу росту і дещо вищою на 5-ту, а у штаму $\Delta tor2$ з часом росту культури активність ферменту зростає.

Вища інтенсивність окисних процесів в присутності фруктози [10], які запускають механізми захисту від стресу, дозволяє дріжджам бути стійкішими за таких умов. З попередніх досліджень відомо, що глюкоза та інші поживні речовини, здатні активувати Sch9-, Ras-, PKA-, і також TOR-залежний шлях, що, своєю чергою, пригнічує протеїназу Rim15 і блокує Rim15-залежну індукцію багатьох важливих генів, зокрема тих, які регулюють вуглеводний обмін [7, 8, 11].

Інгібування ростових сигналів через обмеження калорій або інактивацію внаслідок мутації, консервативних інсулінового та TOR-сигнального шляху продовжує тривалість життя усіх еукаріотичних організмів: від дріжджів до людини. У вищих еукаріот інгібування передачі ростових сигналів також захищає від пов'язаних з віком захворювань, зокрема раку, серцево-судинних та нейродегенеративних хвороб. Збільшення тривалості життя за рахунок блокування ростових сигналів відбувається паралельно з активацією систем захисту від оксидативного стресу, внаслідок чого знижується рівень АФК та окисного пошкодження макромолекул. Це добре узгоджується з вільнорадикальною теорією старіння [10], яка ґрунтується на тому, що окисне пошкодження макромолекул є основним визначником тривалості життя.

Висновки. За умов голодування вищу метаболічну активність виявлено у клітин, вирощених в середовищі з фруктозою на 5 добу росту, що може вказувати на вищу інтенсивність окисно-відновних реакцій у цих клітинах. Ймовірно, ріст у присутності фруктози зумовлював швидше старіння клітин, викликане вищою інтенсивністю метаболічних перетворень і генерації активованих форм кисню та активних карбонільних сполук, порівняно із ростом клітин в середовищі з глюкозою. На користь цього свідчить і те, що активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази була нижчою, в присутності фруктози, що зумовило прискорення процесів неферментативного перетворення, і, як наслідок, швидшого старіння.

За обмеження калорій, зумовленого низькими концентраціями вуглеводів у середовищі культивування, метаболічна активність є вищою, а активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази – нижчою у мутантних клітин, порівняно з вихідним штамом.

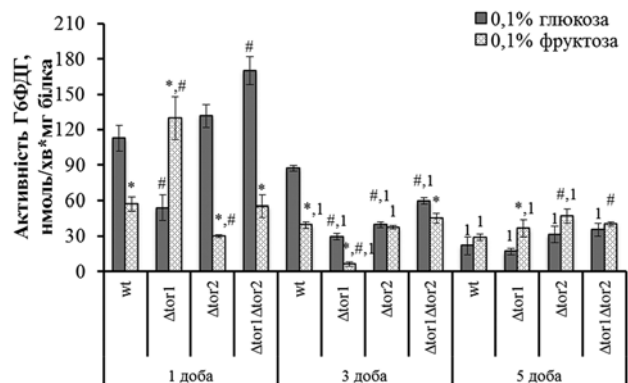


Рис. 2. Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г6ФДГ) *S. cerevisiae* за росту в присутності 0,1% глюкози чи фруктози ($M \pm m$, $n = 3-6$). Вірогідно відмінне від відповідних значень, отриманих у присутності глюкози, *на першу добу росту та #для батьківського штаму (wt) з $P < 0,05$

Можливо, це пов'язано з гальмуванням TOR-сигнального шляху та активацією компенсаторних механізмів, зокрема протеїнкіназ Snf1p/AMP, Sch9, PKA, MAP [1, 21, 24], які частково «перебирають» на себе функції TOR-сигнального шляху.

Перспективи подальших досліджень. TOR є сенсором поживних речовин у клітині, який бере участь у регулюванні передачі сигналів від цих речовин. Такі шляхи виявлені для амінокислот. Проте для вуглеводів, які є основним джерелом енергії та карбону для клітини, можливі шляхи взаємозв'язку з TOR-сигнальним шляхом залишаються вивченими недостатньо. Цікавим є також зв'язок TOR-сигнального шляху та функціонування систем відповіді на дію карбонільного/оксидативного стресу, а також одночасний вплив делецій у TOR-сигнальному шляху та обмеження калорій. Кіназа TOR може також вважатися хорошою мішенню для активації процесів старіння в пухлинних клітинах

зниження пулу проліферуючих клітин. Генетичні підходи показали існування взаємозв'язку між програмами, які контролюють автофагію та старіння. Активація автофагії контролюється TOR і призводить до збільшення тривалості життя, так само, як це відбувається у випадку обмеження калорій. Причинно-наслідкові зв'язки, якщо такі присутні, між старінням і TOR-залежною регуляцією клітинного редокс-гомеостазу, менш зрозумілі і тільки починають досліджуватися. Інгібування TOR може бути корисним при терапії діабету, оскільки при низькій активності TOR відновлюється чутливість до інсуліну. Перспективними також є дослідження для виявлення молекулярних механізмів зв'язку TOR з процесом старіння.

Подяки. Висловлюю подяку д.б.н. Семчишин Галині Миколаївні за наукове керівництво роботою, а також професору Michael Hall за люб'язно надані штами *S. cerevisiae*.

References

1. Homza B, Vasytkovska R, Semchyshyn H. Defects in TOR regulatory complexes retard aging and carbonyl/oxidative stress development in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2014; 86 (1): 85-92. [Ukrainian].
2. Lozinska LM, Semchyshyn HM. Biological aspects of the nonenzymatic glycosylation. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2012; 84 (5): 16-37. [Ukrainian].
3. Lozinska LM, Semchyshyn HM. Fructose as a factor of carbonyl and oxidative stress development and accelerated aging in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2011; 83 (4): 67-76. [Ukrainian].
4. Lushchak VI, Bagnyukova TV, Lushchak OV. Indices of oxidative stress. 1. TBA-reactive substances and carbonylproteins. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2004; 76 (3): 136-41. [Ukrainian].
5. Beck T, Hall MN. The TOR signalling pathway controls nuclear localization of nutrient-regulated transcription factors. *Nature*. 1999; 402: 689-92. DOI: 10.1038/45287.
6. Bisson LF, Fraenkel DG. Involvement of kinases in glucose and fructose uptake by *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1983; 1730-4.
7. Wanke V, Camerini E, Uotila A, Piccolis M, Urban J, Loewith R, De Virgilio C. Caffeine extends yeast lifespan by targeting TORC1. *Mol Microbiol*. 2008 Jul; 69 (1): 277-85. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2008.06292.
8. Kliegman JI, Fiedler D, Ryan CJ, Xu Yi-Fan, Su Xiao-yang, Thomas D, Caccese MC, et al. Chemical genetics of rapamycin-insensitive TORC2 in *S. cerevisiae*. *Cell Rep*. 2013; 5 (6): 1725-36. DOI: 10.1016/j.celrep.2013.11.040.
9. Lushchak V, Semchyshyn H, Lushchak O, Mandryk S. Diethylthiocarbamate inhibits in vivo Cu,Zn-superoxide dismutase and perturbs free radical processes in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005; 338: 1739-44. DOI: 10.1016/j.bbrc.2005.10.147.
10. Valishkevych BV, Vasytkovska RA, Lozinska LM, Semchyshyn HM. Fructose-induced carbonyl/oxidative stress in *S. cerevisiae*: Involvement of TOR. *Biochem Res Int*. 2016; 2016: Article ID 8917270, 10 pages. DOI: 10.1155/2016/8917270.
11. Weinberger M, Mesquita A, Carroll T, Marks L, Yang H, Zhang Z, Ludovico P, Burhans WiC. Growth signaling promotes chronological aging in budding yeast by inducing superoxide anions that inhibit quiescence. *Aging (Albany NY)*. 2010; 2 (10): 709-26. DOI: 10.18632/aging.100215.
12. Heitman J, Movva NN, Hall MN. Targets for cell cycle arrest by the immunosuppressant rapamycin in yeast. *Science*. 1991; 253: 905-9.
13. Mao Y, van Hoef V, Zhang X, Wennerberg E, Lorent J, Witt K, Masvidal L, Liang Sh, Murray Sh, Larsson O, Kiessling R, Andreas Lundqvist. IL-15 activates mTOR and primes stress-activated gene expression leading to prolonged antitumor capacity of NK cells. *Blood*. 2016 Sep 15; 128 (11): 1475-89. DOI: 10.1182/blood-2016-02-698027.
14. Gidlöf O, Johnstone AL, Bader K, Khomtchouk BB, O'Reilly JJ, Celik S, Van Booven DJ, et al. Ischemic preconditioning confers epigenetic repression of mTOR and induction of autophagy through G9a-dependent H3K9 dimethylation. *J Am Heart Assoc*. 2016 Dec 22; 5 (12): e004076. DOI: 10.1161/JAHA.116.004076.

15. Lushchak VI. Budding yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a model to study oxidative modification of proteins in eukaryotes. *Acta Biochim Pol.* 2006; 53 (4): 679–84.
16. Conconi A, Jager-Vottero P, Zhang X, Beard BC, Smerdon MJ. Mitotic viability and metabolic competence in UV-irradiated yeast cells. *Mutation Research.* 2000 Feb 16; 459 (1): 55-64.
17. Kittipongdaja W, Wu X, Garner J, Liu X, Komasa SM, Hwang ST, Schieke SM. Rapamycin Suppresses Tumor Growth and Alters the Metabolic Phenotype in T-Cell Lymphoma. *J Invest Dermatol.* 2015 Sep; 135 (9): 2301–8. DOI: 10.1038/jid.2015.153.
18. Sofer A, Lei K, Johannessen CM, Ellisen LW. Regulation of mTOR and cell growth in response to energy stress by REDD1. *Mol Cell Biol.* 2005 Jul; 25 (14): 5834–45. DOI: 10.1128/MCB.25.14.5834-5845.2005.
19. Sabatini DM, Laplante M. mTOR signaling in growth control and disease. *Cell.* 2012; 149 (2): 274–93. DOI: 10.1016/j.cell.2012.03.017.
20. Semchyshyn H. Hydrogen peroxide-induced response in *E. coli* and *S. cerevisiae*: different stages of the flow of the genetic information. *Cent Eur J Biol.* 2009; 4 (2): 142–53.
21. Semchyshyn HM, Bayliak MM, Lushchak VI. In book: *Biology of Starvation in Humans and Other Organisms*, Editor: TC Merkin. 2011. p. 103–50.
22. Sharma PK, Agrawal V, Roy N. Mitochondria-mediated hormetic response in life span extension of calorie-restricted *Saccharomyces cerevisiae*. *Age (Dordr).* 2011; 33 (2): 143–54. DOI: 10.1007/s11357-010-9169-1.
23. Wei Y, Zheng XF. Sch9 partially mediates TORC1 signaling to control ribosomal RNA synthesis. *Cell Cycle.* 2009 Dec 15; 8 (24): 4085–90. DOI: 10.4161/cc.8.24.10170.
24. Xiong Y, Sheen J. Moving beyond translation: Glucose-TOR signaling in the transcriptional control of cell cycle. *Cell Cycle.* 2013; 12 (13): 1989–90. DOI: 10.4161/cc.25308.

УДК 579.222: 577.124.3: 577.24

**УЧАСТИЕ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ TOR В РЕГУЛЯЦИИ МЕТАБОЛИЗМА
Saccharomyces cerevisiae ПРИ ОГРАНИЧЕНИИ УГЛЕВОДОВ**

Валишкевич Б. В.

Резюме. Цель работы заключалась в исследовании влияния ограничения углеводов, на дрожжи *S. cerevisiae*, дефектные по разным участкам TOR-сигнального пути, при их росте в среде культивирования с глюкозой или фруктозой. **Методы.** Оценка метаболической активности и активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. **Результаты.** Показано, что при ограничении углеводов (0,1% глюкоза или фруктоза в среде культивирования) метаболическая активность в целом выше, а активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы – ниже в мутантных клетках, в сравнении с исходным штаммом. **Выводы.** Путь TOR вовлечен в ответ на ограничение углеводов, однако этот ответ зависит от штамма и типа углевода в среде культивирования.

Ключевые слова: *Saccharomyces cerevisiae*, глюкоза, фруктоза, TOR-сигнальный путь, карбонильный/окислительный стресс.

UDC 579.222: 577.124.3: 577.24

**Involvement of the Tor signaling pathway in metabolism regulation
of *Saccharomyces cerevisiae* grown under carbohydrate-limited conditions**

Valiskhevich B. V.

Abstract. The lack of nutrients and energy in the cell is tightly connected with periods of their low or high levels. This forces the switch from anabolism to catabolism and vice versa. One important protein that regulates this switch is a protein kinase TOR (target of rapamycin). TOR signaling pathway is a highly conservative controller of many functions, including the intensity of metabolism and stress resistance in a variety of organisms from yeast to humans. It is known that atypical kinase TOR is a component of a complex signaling system, which normally regulates growth and proliferation of cells.

Identification of TOR, as an integral component of PI3K/AKT pathway and existence of cross anticancer action between p53 and TOR signaling pathways demonstrate the unique role of TOR kinase during cell growth. In fact, various aspects of TOR kinase regulation are examined. As an example, TOR kinase interaction with the basic cellular signaling cascades makes it a useful target for treatment of cancer, diabetes and obesity. It is known that TOR is a nutrient sensor in the cell, which participates in the regulation of signal transduction in response to nutrients (e.g. proteins and amino acids). However, interplay between substances like carbohydrates, that are a major source of energy and carbon for cell, and TOR-signaling pathway remains poorly studied.

Metabolic activity is an indicator of intensity of redox processes in the cell. Since the intracellular redox balance depends on the total metabolic activity of cells, we have studied the metabolic activity in the presence of

low concentrations of carbohydrates. In the presence of 0.1% carbohydrates in the yeast cultivation medium, fructose-grown parental strain and single mutants demonstrated metabolic activities lower than respective glucose-grown. It can serve as a confirmation of our assumptions about pre-adaptations of fructose-grown yeast cells to carbonyl/oxidative stress. Also, in most cases this parameter was higher in mutant cells compared with the parental strain.

Glucose-6-phosphate dehydrogenase is a key enzyme of pentose phosphate pathway and plays an important role in maintaining proper intracellular pool of reduced coenzyme NADPH. Changes in the enzyme activity can be used as a potential biomarker of carbonyl/oxidative stress.

It should also be noted that in most cases cells grown in the medium with fructose had lower activity of the enzyme than those in the presence of glucose. Interestingly, the activity of glucose-6-phosphate in mutant strains was lower compared to the parental strain. That can be explained by the redirection of carbohydrates towards non-enzymatic transformations.

Thus, under starvation conditions with fructose all studied strains grew faster than those in the presence of glucose. It can be suggested that fructose as compared to glucose accelerates aging by higher metabolism intensity, generation of reactive oxygen and carbonyl species. The above suggestion is in a good agreement with the fact that the activity of G6PDH was lower in the presence of fructose, resulting in acceleration of non-enzymatic reactions.

Calorie restriction (0.1% carbohydrates in the medium) inhibits TOR signaling pathway. Metabolic activity is higher, and the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase is lower in the mutant cells compared with the parental strain. This suggests activating of compensatory mechanisms, including protein Snf1p/AMP, Sch9, PKA, MAP that in some way compensates the lack of TOR signaling pathway.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*, glucose, fructose, TOR signaling pathway, carbonyl/oxidative stress.

Стаття надійшла 19.08.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування