

ВЛИЯНИЕ СЛАБЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ И ИЗОТОПОВ МАГНИЯ НА БАКТЕРИИ *E. coli*

© 2017 г. У.Г. Летуга, С.Н. Летуга, В.Л. Бердинский

Оренбургский государственный университет, 460018, Оренбург, просп. Победы, 13

E-mail: shevulyana@yandex.ru

Поступила в редакцию 25.04.17 г.

Исследовано совместное влияние внешних постоянных слабых магнитных полей с индукцией 0–22 мТл и изотопов магния на рост и развитие бактерий *E. coli*. Магнитно-полевые и магнитно-изотопные эффекты ^{25}Mg обнаружены в двух диапазонах: 0,8–3,0 и 8–13 мТл. Экспериментальные данные скорости роста, КОЕ и пула АТФ для бактерий, обогащенных магнитным изотопом магния ^{25}Mg (спин ядра $I = 5/2$), в диапазоне 0,8–3,0 мТл оказываются достоверно выше по сравнению с бактериями, обогащенными немагнитными изотопами ^{24}Mg , ^{26}Mg или природным магнием. Увеличение скорости роста, колониеобразующей способности и внутриклеточной концентрации АТФ всех исследуемых групп бактерий, культивируемых во внешнем постоянном магнитном поле 0,8–3,0 мТл, подтверждает наличие магниточувствительных стадий ферментативных реакций, протекающих по ион-радикальному механизму. Совместное влияние магнитного поля диапазона 8–13 мТл и магнитного изотопа магния ^{25}Mg на колониеобразующую способность бактерий *E. coli* связано с процессами, ответственными за деление бактерий. Обнаруженные эффекты бактериальной магниточувствительности – магнитно-полевые и магнитно-изотопные – качественно совпадают с предсказаниями теории спин-зависимых ферментативных реакций.

Ключевые слова: ядерный спин, магнитное поле, магниточувствительность, изотопы магния, *E. coli*, спин-зависимые ферментативные процессы, колониеобразующие единицы, внутриклеточное содержание АТФ.

Живые организмы постоянно подвергаются воздействию постоянных магнитных и переменных электромагнитных полей, большая часть из которых носит техногенный характер: линии электропередач, сотовые телефоны, электронные и бытовые приборы. Многочисленные исследования показали, что живые организмы, в том числе бактерии, различным образом реагируют на действие магнитного поля [1–5]. Конкретный биологический отклик живой клетки зависит от выбранного типа микроорганизмов и от способа его регистрации, как утверждает часть исследователей [3]. Природа наблюдаемых магнитно-полевых эффектов на клеточном и молекулярном уровне, как правило, непонятна, а сами эффекты не всегда имеют достоверный физико-химический механизм, в том числе из-за противоречивости экспериментальных результатов [5,6]. Например, воздействие магнитного поля на бактерии *E. coli* может вызывать как увеличение скорости деления клеток, так и уменьшение в зависимости от физиологических условий роста [7,8].

Накопление экспериментального материала и поиск гипотез о механизмах магнитно-полевых эффектов в живых клетках ведется с начала XX века [9]. За это время исследователи пытались варьировать самые различные параметры влияния магнитного поля на живые системы: величину индукции магнитного поля (от 10^{-6} до 10 Тл); время воздействия (от нескольких минут до нескольких суток); типы исследуемых систем (от молекулярных комплексов до многоклеточных организмов) [5]. Однако большая часть исследований представляет собой слепые попытки нащупать закономерности возникновения отклика в живых системах в ответ на действие магнитных полей. Это связано с отсутствием строгой теоретической базы для биологических магнитно-полевых эффектов. Предлагаются различные механизмы магниточувствительности живых организмов [10–15]. Некоторые из них объясняют магнитную ориентацию птиц и рыб [12–14]; другие – магнитно-полевые эффекты в биополимерах [15] и т.д. Универсальный механизм магниточувствительности, который был бы справедлив для всех живых систем, не был предложен. Наиболее вероятный претендент на универсальный «приемник» внешнего магнитного поля в клетках –

Сокращение: КОЕ – колониеобразующие единицы.

это спин-зависимые ферментативные реакции, которые имеют строгую теоретическую базу [16,17] и экспериментальные подтверждения *in vitro* [18,19]. Магниточувствительными стадиями в таких реакций являются стадии с переносом одного или нескольких электронов, приводящие к образованию ион-радикальных пар в активном сайте фермента. Внешнее магнитное поле или магнитные изотопы химических элементов, например ^{31}P , ^{25}Mg , ^{43}Ca , имеющие ядерный магнитный момент и участвующие в реакции, способны изменять полное спиновое состояние ион-радикальной пары за счет индуцирования синглет-триплетной конверсии. Это приводит к изменению вероятностей прямой и обратной реакций и, в свою очередь, к увеличению или уменьшению выхода продуктов реакции.

Первые спин-зависимые ферментативные реакции были обнаружены в экспериментах с фосфорилирующими ферментами и изотопами магния: участие ядра магния ^{25}Mg , имеющего магнитный момент ($S = 5/2$), в реакции синтеза АТФ увеличивало выход продукта по сравнению с немагнитными ядрами ^{24}Mg и ^{26}Mg [20, 21]. Предложенный механизм реакции предполагает перенос электрона с концевой фосфатной группы АДФ с образованием ион-радикальной пары в активном сайте фермента. Впоследствии аналогичные эффекты в ферментативном синтезе АТФ были сначала предсказаны, а потом получены для магнитных изотопов ^{67}Zn и ^{43}Ca [22,23]. Ферментативная реакция синтеза ДНК оказалась также чувствительна к наличию ядерного магнитного спина у изотопа магния ^{25}Mg или цинка ^{67}Zn [24]. Эффективность магнитных изотопов в таких реакциях возрастала при включении внешнего магнитного поля [25–27]. Обнаруженные магнитно-изотопные и магнитно-полевые эффекты в синтезе АТФ и ДНК заложили прочный экспериментальный фундамент в теорию магниточувствительности живых организмов, обусловленную наличием спин-зависимых стадий элементарных актов ферментативных реакций. В работах [16,17] приведена строгая теория, иллюстрирующая зависимость скорости ферментативной реакции, идущей с переносом одного или нескольких электронов, от внешнего магнитного поля. Главная магниточувствительная стадия такого процесса – синглет-триплетная конверсия ион-радикальных пар в активных центрах ферментов, индуцированная зеемановскими и сверхтонкими взаимодействиями электронных и ядерных спинов с магнитным полем. Продукты этих реакций «превращают» эффекты ядерного спина и магнитного поля в «биохимический отклик» живых организмов, доступный для регистрации в экспериментах *in vivo*. Величина магнитно-

полевых эффектов в соответствии с теорией зависит от соотношения константы сверхтонкого взаимодействия магнитного изотопа, участвующего в реакции, и константы скорости самой ферментативной реакции. При этом самые сильные эффекты должны наблюдаться в слабых магнитных полях, напряженности которых не превышают значений констант сверхтонких взаимодействий 0–50 мТл.

Магнитно-полевые эффекты в живых организмах, предсказанные этой теорией, практически не регистрировались ранее из-за используемых диапазонов магнитных полей больше 0,1 Тл [5,28], а также из-за ограниченного числа экспериментальных точек и кратковременного воздействия поля. Как правило, выбор конкретного значения внешнего магнитного поля обусловлен особенностями экспериментальной установки или предпочтениями исследователей. Первые эксперименты *in vivo*, позволившие исследовать влияние постоянных слабых магнитных полей предсказанного диапазона, были проведены на примере клеток *E. coli* [29]. Бактерии культивировали в постоянном магнитном поле 0–100 мТл в питательных средах, содержащих изотопы магния. Постановка эксперимента позволила обнаружить совместные магнитно-полевые и магнитно-изотопные эффекты магния в количестве колониобразующих единиц (КОЕ) и внутриклеточного содержания АТФ бактерий *E. coli* в полях 70–95 мТл. Корреляция этих эффектов свидетельствует о магниточувствительности АТФ-синтезирующих систем в бактериях, что привело к изменению и физиологических характеристик роста бактериальной культуры (КОЕ), и биохимических показателей (пул АТФ). Интересные магнитно-полевые зависимости в этой работе были получены и в диапазоне 0–15 мТл. Однако из-за небольшого числа экспериментальных точек сложно сделать выводы о достоверности этих эффектов и их природе. Эти поля интересны тем, что константы сверхтонких взаимодействий большинства органических радикалов, включающих магнитные ядра природных изотопов ^1H и ^{13}C , лежат в диапазоне 0,1–4 мТл [30]. Участие металл-ионов, имеющих ядерный магнитный момент, например ^{25}Mg , в ферментативных спин-зависимых реакциях с такими радикалами может приводить к появлению эффектов магнитного поля на уровне живых организмов в диапазоне 0–22 мТл.

Цель данной работы – исследование совместного влияния внешнего постоянного слабого магнитного поля 0–22 мТл и магнитного изотопа магния на рост и развитие бактерий *E. coli*. Увеличение числа экспериментальных точек в этом диапазоне до 27 и регистрация изменений в физиологических характеристиках роста бак-

териальной культуры (КОЕ, скорость роста), и биохимических показателей (пул АТФ) позволяет сделать выводы о достоверности и механизме обнаруженных эффектов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследований использовали культуру клеток *Escherichia coli* – музейный штамм K12TG1. Бактерии *E. coli* выращивали на минимальных синтетических питательных средах М9 (37,4 ммоль/л NH_4Cl , 2,2 ммоль/л $^{24,25,26}\text{MgSO}_4$, 55,5 ммоль/л глюкозы, 84,5 ммоль/л Na_2HPO_4 , 44,1 ммоль/л KH_2PO_4 , 17,1 ммоль/л NaCl), отличающихся только изотопной формой магния, содержащегося в сульфате, – немагнитные ^{24}Mg и ^{26}Mg , магнитный ^{25}Mg и природный изотоп $^*\text{Mg}$ [31,32]. После приготовления синтетической питательной среды М9 уровень pH был одинаковым для всех сред во всех экспериментальных сериях и равнялся $6,85 \pm 0,15$. Культивирование бактерий *E. coli* на выбранной питательной среде позволяет добиться высокого внутриклеточного обогащения (до 98%) изотопом магния, добавляемым в среду [32]. Поэтому инкубирование бактерий в таких средах означает их магний-изотопное обогащение.

Изотопы магния добавляются в среды в виде сульфата магния MgSO_4 ; для всех изотопов концентрации строго контролировались и составляли 2,2 мМ. Для приготовления сульфатов использовали изотопно-чистые оксиды ^{24}MgO , ^{25}MgO и ^{26}MgO (ФГУП «Электрохимприбор», Лесной Свердловской области, Россия) с рекордно высоким изотопным обогащением 99,8, 98,8 и 97,7 атомных процентов соответственно. Отсутствие в средах примесей, которые могли повлиять на результаты экспериментов, было доказано в работе [31].

Музейный штамм *Escherichia coli* предварительно инкубировали в LB-бульоне (Sigma Aldrich, США) в течение 14 ч при температуре 37°C. Плотность посевной культуры контролировали фотометрически на спектрофлуориметре CM2203 (SOLAR, Минск, Беларусь): на длине волны 620 нм оптическая плотность составляла $D = 0,61 \pm 0,01$ отн. ед. Клетки *E. coli* пересевали в среды М9, содержащие изотопы ^{24}Mg , ^{25}Mg , ^{26}Mg соответственно. В качестве контроля использовали питательную среду с природным содержанием изотопов $^*\text{Mg}$, т.е. смесь изотопов в их природном соотношении. Образцы бактерий помещали в термостат, находящийся в поле электромагнита так, что в термостате одновременно создавались области магнитных полей в диапазоне 0–22 мТл с помощью электромагнита (Takeda Richen, Токио, Япония) в соответствии

со схемой экспериментальной установки, приведенной на рис. 1. Бактерии выдерживались в этом термостате в течение 7 ч при постоянной температуре 37°C. Аэробные условия культивирования обеспечивали помещением сред с культурой бактерий на шейкер ST-3 (ELMI, Рига, Латвия), каждый час на 5 мин, скорость вращения платформы – 200 об/мин. Бактерии культивировали одновременно в 384 контрольных точках, соответствующих 27 стационарным магнитным полям, для каждого из изотопов. Магнитное поле в этих точках измеряли с помощью миллитесламетра ТП2-2У («Фела-контроль», Санкт-Петербург, Россия).

Ростовые кривые получали с помощью турбидиметрического метода: оптическую плотность клеточных суспензий регистрировали каждый час с помощью анализатора УНИПЛАН («Пикон», Москва, Россия) на длинах волн 450 и 620 нм. Константы скорости роста были получены после аппроксимации начального участка кривых роста [31,33].

Для определения внутриклеточного АТФ в бактериях *E. coli* использовали биолюминесцентный метод [34,35]. Измерение концентрации АТФ проводили на люминометре «Люм-1» («Люмтек», Москва, Россия) с использованием набора Люмтек для измерения общей концентрации АТФ в экстрактах клеток и тканей. Для измерения концентрации АТФ сначала производили реконструкцию АТФ-реагента путем добавления раствора для реконструкции. Бактериальные клетки разрушали с помощью соответствующего раствора (диметилсульфоксида) для высвобождения АТФ. 0,1 мл полученного экстракта вносили в кювету люминометра и добавляли 0,02 мл АТФ-реагента. Интенсивность полученного биолюминесцентного сигнала сравнивали с интенсивностью сигнала АТФ-контроля.

Для определения внутриклеточного количества АТФ в бактерии концентрацию АТФ, полученную с помощью биолюминесцентного метода, делили на количество клеток, измеренное с помощью метода измерения колониеобразующих единиц. При измерении КОЕ применяли метод серийных разведений: использовали три разведения среды, содержащей клетки *E. coli*, в физиологическом растворе (0,85% водный раствор NaCl) [36].

Часть экспериментов проводили по методике «double blind» в целях получения достоверных результатов. Двойной слепой метод в данной работе был обеспечен «двойной слепой» нумерацией образцов с бактериями: экспериментатор, готовящий растворы сульфатов изотопов магния, нумеровал их как 1, 2, 3, 4, а экспериментатор, готовящий среды М9 с изо-

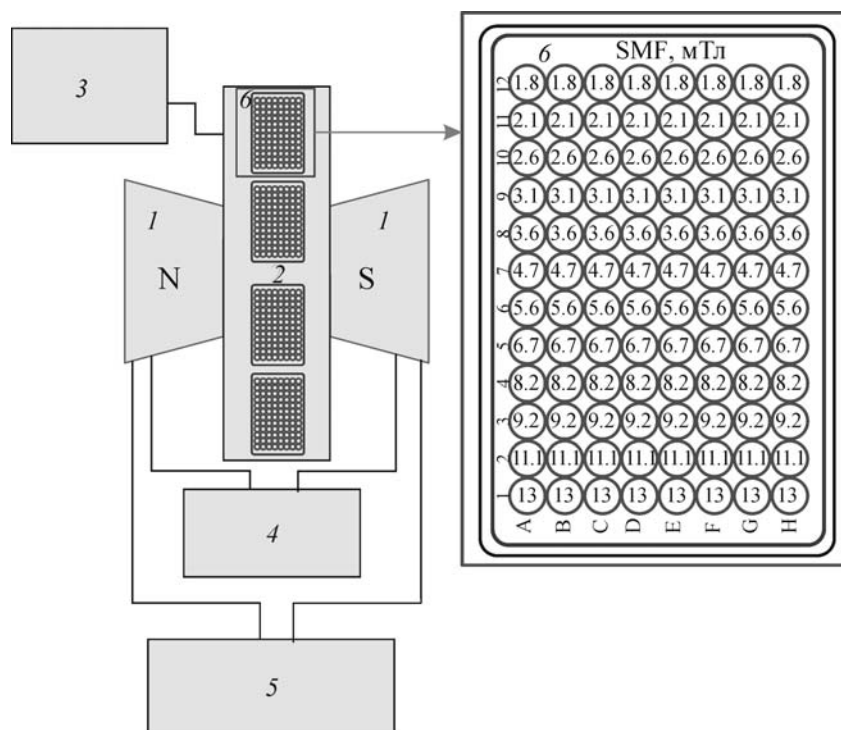


Рис. 1. Схема экспериментальной установки: 1 – полюса электромагнита; 2 – термостат, в который для культивирования в постоянном магнитном поле помещали 96-луночные планшеты с бактериями *E. coli*; 3 – циркуляционный термостат, поддерживающий заданную температуру (37°C); 4 – питание электромагнита; 5 – система охлаждения электромагнита; 6 – пример расположения постоянных магнитных полей для 96-луночных планшетов, диапазон магнитного поля, создаваемого магнитом в этом примере, составляет от 1,8 до 100 мТл.

топами, использовал собственную нумерацию, отличную от предыдущей. До окончательной обработки результатов оба экспериментатора не знали, какие бактерии выращены в присутствии магнитного изотопа магния ^{25}Mg , какие – немагнитных изотопов магния $^{24,26}\text{Mg}$, а какие культивировались на среде с природным магнием.

Экспериментальные данные обрабатывали с помощью прикладного программного пакета Origin 8.0 с применением критерия Стьюдента. Различия между средними значениями считали статистически достоверными при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Совместное влияние магнитного ^{25}Mg и немагнитных изотопов магния $^{24,26}\text{Mg}$ и слабых постоянных магнитных полей на рост бактерий *E. coli* оценивали с помощью двух показателей – скорости роста и колониеобразующей способности. После аппроксимации более 100 ростовых кривых для каждого из изотопов магния были получены магнитно-полевые зависимости скорости роста бактерий *E. coli* (рис. 2). На рис. 2а представлены полученные зависимости, имеющие две интересные особенности. Во-пер-

вых, в диапазоне слабых постоянных магнитных полей (0,8–3 мТл) скорость роста для всех бактерий (независимо от изотопа магния, присутствовавшего в питательной среде) оказывается выше, чем в более сильных полях (3,5–22 мТл). Во-вторых, максимальной скорости роста в этом диапазоне достигают бактериальные клетки, обогащенные магнитным изотопом магния ^{25}Mg (рис. 2б). При этом наибольшее значение скорости роста ($0,081 \pm 0,005 \text{ ч}^{-1}$) наблюдается при совместном влиянии постоянного магнитного поля 2,2 мТл и изотопа магния ^{25}Mg , имеющего ядерный магнитный момент. Кинетические кривые роста для этого поля приведены на рис. 3. Ростовая кривая бактерий *E. coli*, культивируемых в присутствии магния ^{25}Mg , достоверно лежит выше кривых роста других бактерий, культивируемых в присутствии немагнитных изотопов магния ^{24}Mg , ^{26}Mg и природного магния $^*\text{Mg}$. Необходимо отметить, что скорость роста для всех групп клеток, достигая максимального значения в диапазоне 0,8–3 мТл, плавно уменьшается при возрастании внешнего магнитного поля вплоть до 16 мТл. В диапазоне 9–13 мТл скорость роста бактерий, обогащенных магнитным изотопом ^{25}Mg и немагнитным изотопом ^{24}Mg магния, выше на

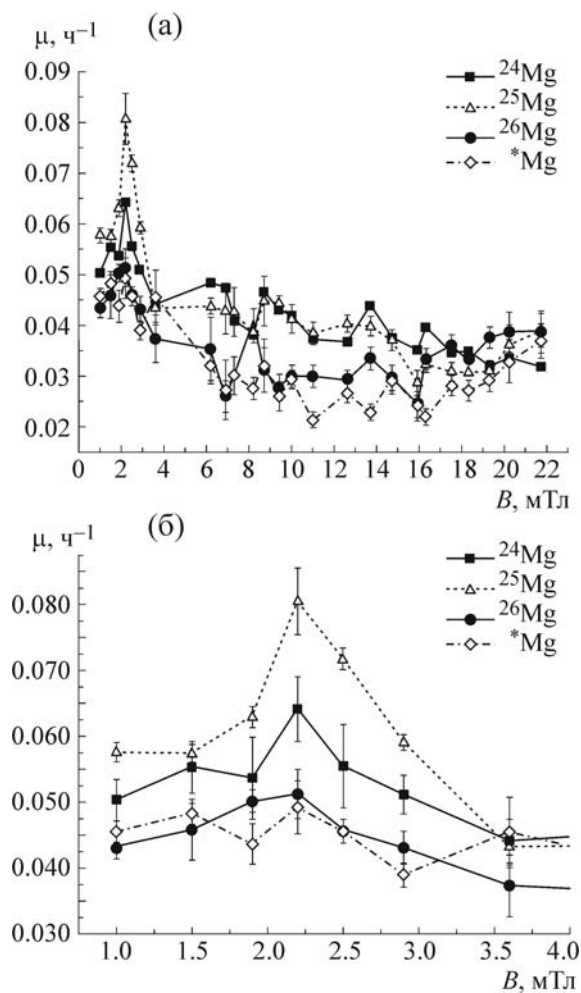


Рис. 2. (а) – Магнитно-полевые зависимости скорости роста бактерий *E. coli*, культивируемых на среде М9 с изотопами магния; (б) – увеличенный фрагмент представленных на рис. (а) зависимостей в диапазоне 1–3,5 мТл.

15–20% по сравнению с клетками, обогащенными немагнитным изотопом ^{26}Mg и природным магнием.

На рис. 4 приведены магнитно-полевые зависимости количества КОЕ бактерий *E. coli*, культивируемых в присутствии изотопов магния. Количество КОЕ бактерий, как и скорость роста, возрастает и достигает максимального значения при росте в постоянных магнитных полях 0,8–3 мТл для всех тестируемых групп клеток. Клетки *E. coli*, обогащенные магнитным изотопом магния ^{25}Mg , оказываются более жизнеспособными: КОЕ этих бактерий в два–четыре раза выше по сравнению с бактериями, обогащенными немагнитными изотопами магния и природным магнием. При этом подобное совместное влияние внешнего постоянного магнитного поля и изотопа магния, ядро которого имеет магнитный момент, на колониеобразую-

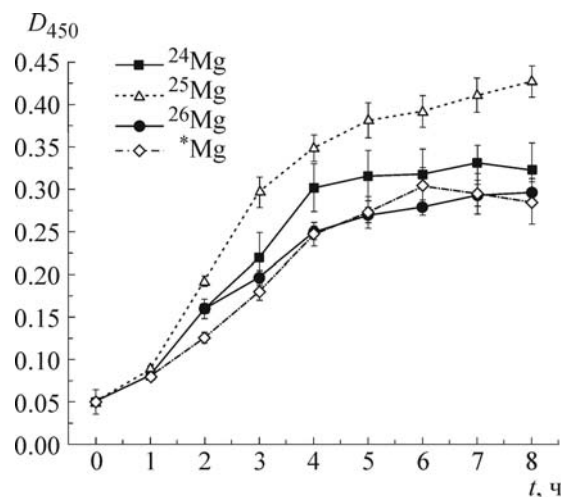


Рис. 3. Ростовые кривые бактерий *E. coli*, культивируемых на среде М9 с изотопами магния в постоянном магнитном поле 2,2 мТл.

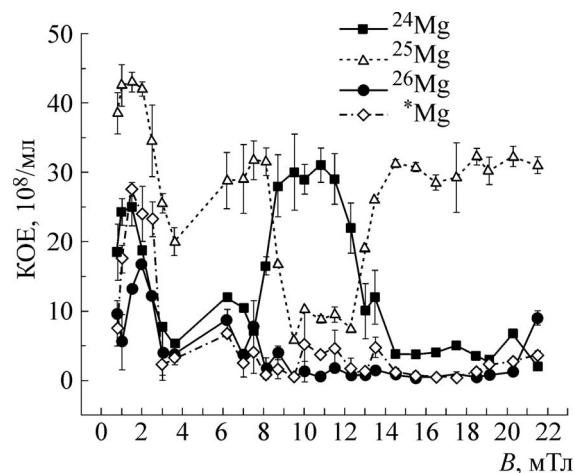


Рис. 4. Магнитно-полевые зависимости КОЕ бактерий *E. coli*, культивируемых на среде М9 с изотопами магния.

щую способность бактерий *E. coli* (рис. 4) проявляется во всем исследуемом диапазоне 0,8–22 мТл, за исключением полей 9–11 мТл. Здесь происходит резкое уменьшение (в три раза) количества КОЕ бактерий, обогащенных магнитным магнием ^{25}Mg , однако возрастает КОЕ микроорганизмов, обогащенных немагнитным изотопом магния ^{24}Mg . Других статистически достоверных различий для колониеобразующей способности бактерий *E. coli*, культивируемых в постоянном магнитном поле диапазонов 3,5–9 мТл и 13–22 мТл и различных изотопов магния не обнаружено.

Магнитно-полевые зависимости внутриклеточного содержания АТФ бактерий *E. coli* после 9 ч культивирования в питательных средах М9,

содержащих магнитный ^{25}Mg , немагнитные $^{24,26}\text{Mg}$ изотопы магния и природный $^*\text{Mg}$ магний, приведены на рис. 5. Следует выделить диапазоны магнитных полей, в которых обнаружены статистически достоверные различия для пула АТФ: 0,8–3 мТл, 9–13 мТл и 8–11,5 мТл. В первом и втором из этих диапазонов наблюдается положительный совместный эффект внешнего магнитного поля и ядерных магнитных моментов магния ^{25}Mg во внутриклеточном содержании АТФ бактерий *E. coli*, притом амплитуда эффектов сравнима между собой. Неожиданный результат получен для внутриклеточного содержания АТФ бактерий *E. coli*, обогащенных немагнитным изотопом магния ^{24}Mg , в диапазоне 8–11,5 мТл. Пул АТФ в них возрастает в полтора раза по сравнению с клетками, обогащенными немагнитным изотопом магния ^{26}Mg и природным магнием $^*\text{Mg}$, что коррелирует с данными колониеобразующей способности. Других статистически достоверных различий внутриклеточного содержания АТФ в бактериях *E. coli* от внешнего магнитного поля и изотопов магния, добавляемых в среду, не было обнаружено.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Совместное влияние слабых постоянных магнитных полей и изотопов магния на рост бактерий *E. coli* было обнаружено в двух диапазонах: 0,8–3 мТл и 8–13 мТл. Физиологический и биохимический «отклик» на воздействие внешнего магнитного поля 0,8–3 мТл был зарегистрирован для всех бактериальных клеток, обогащенных и магнитным изотопом ^{25}Mg , и немагнитными изотопами ^{24}Mg и ^{26}Mg , и природным магнием $^*\text{Mg}$. Именно в этом диапазоне ожидалось самые яркие магнитно-полевые эффекты в живых организмах согласно теории ферментативной магниточувствительности, где в качестве первичного приемника внешнего магнитного поля выступают спин-зависимые стадии элементарных актов ферментативных процессов. Магниточувствительность этих стадий обусловлена участием частиц, имеющих магнитные моменты, например, магнитных изотопов ^1H , ^{13}C , ^{31}P , ^{25}Mg , ^{23}Na , и их сверхтонким взаимодействием с электронными спинами и внешним магнитным полем [16,17]. Обязательным условием протекания магниточувствительной ферментативной реакции является перенос электрона и соответственно электронного спина, и образование пары «ион–радикал». Магнитные моменты стабильных изотопов и внешнее постоянное магнитное поле индуцируют переход ион-радикальной пары из начального синглетного состояния в триплетное. Вероятности прямой и обратной ферментативной ре-

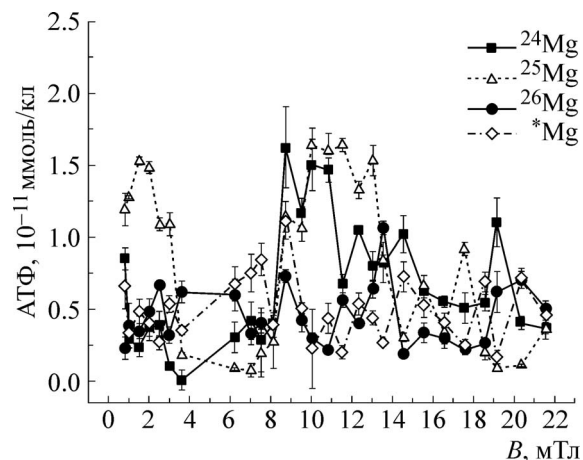


Рис. 5. Магнитно-полевые зависимости внутриклеточного содержания АТФ в бактериях *E. coli*, культивируемых на среде М9 с изотопами магния.

акции зависят от полного спинового состояния такой пары. Например, синглет-триплетная конверсия пары $^{25}\text{Mg}^+$ -радикал АДФ в активном сайте АТФ-синтетазы [18,21] приводит к увеличению вероятности прямой реакции образования АТФ. Как следствие, эффективность работы АТФ-синтетазы, в активном сайте которой находится магнитный изотоп магния ^{25}Mg , возрастает в два–четыре раза.

Обнаруженные магнитно-полевые эффекты в скорости роста и колониеобразующей способности для всех исследуемых групп бактерий *E. coli* в диапазоне магнитных полей 0–3,5 мТл свидетельствуют о справедливости теоретических предсказаний и наличии магниточувствительных ферментативных реакций, протекающих по ион-радикальному механизму. Важно отметить, что экспериментальные данные скорости роста, КОЕ и пула АТФ для бактерий, обогащенных магнитным изотопом магния ^{25}Mg , в этом диапазоне оказываются достоверно выше по сравнению с бактериями, обогащенными немагнитными изотопами или природным магнием. Это связано с тем, что магнитно-изотопный состав бактерий, которые росли на средах с ^{24}Mg , ^{26}Mg или $^*\text{Mg}$ примерно одинаков – это стабильные магнитные изотопы, которые всегда присутствуют в живых организмах, например, ^1H , ^{13}C , ^{31}P . Соответственно константы сверхтонких взаимодействий для этих изотопов и для органических радикалов, в структуру которых они входят, одинаковы для всех трех исследуемых групп бактерий и лежат в диапазоне 0,1–4 мТл [30]. Для группы бактерий, растущих на среде с магнитным магнием ^{25}Mg , к естественному изотопному составу добавляется дополнительное обогащение магнитным изотопом ^{25}Mg . В этом случае фермен-

тативные процессы с участием иона магния ^{25}Mg будут протекать с большей эффективностью, что значительно изменяет физиологический (скорость роста, КОЕ) и биохимический (содержание АТФ) отклик микроорганизмов.

Магнитно-полевые эффекты в колониеобразующей способности и пуле АТФ обнаружены в диапазоне 8–13 мТл только для двух исследуемых групп бактерий – обогащенных магнитным изотопом магния ^{25}Mg и немагнитным изотопом магния ^{24}Mg . Статистически достоверных различий для бактерий, культивируемых на среде с немагнитным изотопом магния ^{26}Mg и $^*\text{Mg}$, не обнаружено. Интересно, что экспериментальные данные для скорости роста, КОЕ и внутриклеточного содержания АТФ в бактериях, инкубируемых на среде с ^{24}Mg в постоянных магнитных полях 8–13 мТл, коррелируют между собой. Однако данные для бактерий, обогащенных магнитным изотопом магния, не коррелируют – увеличению внутриклеточного содержания АТФ соответствует резкое уменьшение количества КОЕ. Вероятно, магнитные поля этого диапазона совместно с магнитными моментами изотопа магния ^{25}Mg подавляют процессы, связанные со способностью бактерии дать колонию. КОЕ – это характеристика, которая отвечает не только за физиологическое состояние бактерии на стационарной фазе (когда производили бактериальный посев), но и за дальнейшую жизнеспособность клеточной культуры. Иначе говоря, не каждая живая бактерия, сначала выращенная в магнитном поле, а потом помещенная в другие условия роста, способна дать полноценное, жизнеспособное потомство. Важно отметить, что внутриклеточное содержание АТФ бактерий, культивируемых на среде с ^{25}Mg и в полях 8–13 мТл, возрастает. Значит, подавление колониеобразующей способности при совместном влиянии магнитного поля и изотопа магния ^{25}Mg не связано с синтезом АТФ. Возможно, магнитные моменты ядер изотопа магния ^{25}Mg ингибируют процессы, связанные с пролиферацией клеток, например, синтез РНК или ДНК. Увеличение КОЕ бактерий, которые культивировались в присутствии немагнитного изотопа магния ^{24}Mg , и отсутствие любых эффектов в этом диапазоне для групп бактерий, культивируемых на среде с немагнитным изотопом магния ^{26}Mg и природным магния $^*\text{Mg}$, говорит о чувствительности таких процессов именно к магнитным моментам ядер ^{25}Mg . Для однозначного объяснения полученных магнитно-полевых эффектов в диапазоне 8–13 мТл нужны дополнительные исследования, в том числе и теоретические.

Очевидно, что наряду с магнитным изотопным эффектом магния ^{25}Mg в росте бактерий *E. coli* проявляется и классический, масс-зави-

симый изотопный эффект в отношении немагнитных изотопов ^{24}Mg и ^{26}Mg . Например, константы скорости роста бактерий, выращенных на среде с ^{24}Mg , выше, чем для бактерий, культивируемых с ^{26}Mg (рис. 2). Однако подобные зависимости не всегда статистически достоверны и составляют не более 15% от эффектов магнитного изотопа магния ^{25}Mg в исследуемом диапазоне магнитных полей. Это говорит о том, что совместное влияние внешнего магнитного поля и изотопа магния ^{25}Mg , имеющего ядерный спин и магнитный момент, на внутриклеточные процессы приводит к значительным физиологическим изменениям по сравнению с немагнитными изотопами, даже с учетом масс-зависимого изотопного эффекта.

Повышение скорости роста, КОЕ и пула АТФ бактерий *E. coli*, обогащенных магнитным изотопом магния ^{25}Mg , при действии внешнего постоянного магнитного поля диапазона 0,8–3 мТл по сравнению с бактериями, обогащенными немагнитными изотопами ^{24}Mg , ^{26}Mg и природным магнием, свидетельствует именно о магнитной, спин-зависимой, природе наблюдаемых эффектов. Обнаруженный магнитно-изотопный эффект магния ^{25}Mg на колониеобразующую способность бактерий *E. coli*, культивируемых в магнитных полях 8–13 мТл, означает, что совместное влияние магнитных полей и магнитных изотопов на ферментативные процессы не всегда приводит к увеличению активности. Это открывает новые возможности для применения магнитного и магнитно-изотопного управления внутриклеточными реакциями. Обнаруженные эффекты бактериальной магниточувствительности – магнитно-полевые и магнитно-изотопные – качественно совпадают с предсказаниями теории спин-зависимых ферментативных реакций, что подтверждает наличие магниточувствительных стадий ферментативных реакций [16,17].

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 16-33-60021_мол_а_дк).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Y. R. Ahuja, B. Vijayashree, R. Saran, et al., *Indian J. Biochem. Biophys.* **36** (5), 318 (1999).
2. D. Faten, *Annu. Rev. Res. Biol.* **4**, 886 (2014).
3. M. Kohno, M. Yamazaki, I. Kimura, and M. Wada, *Pathophysiology* **7**, 143 (2000).
4. M. Molouk, K. Alkhazan, and A. N. Amna, *J. Evol. Biol. Res.* **2**, 7 (2010).
5. W. W. Albuquerque, R. M. Costa, T. S. Fernandes, and A. L. Porto, *Progr. Biophys. Mol. Biol.* **121** (1), 16 (2016).
6. S. Nakasono and H. Saiki, *Radiat. Res.* **154**, 208 (2000).

7. V. Makarevich, *Biophysics* **44**, 65 (1999).
8. K. Okuno, K. Fuchiya, T. Ano, and M. Shada, *J. Ferment. Bioeng.* **75**, 103 (1993).
9. G. C. Kimball, *J. Bacteriol.* **35** (2), 109 (1938).
10. V. N. Binhi, *Magnetobiology underlying physical problems* (Academic Press, Tokyo, 2002).
11. D. Schuler, *Magnetoreception and Magnetosomes in Bacteria* (Springer, Berlin, 2007).
12. C. T. Rodgers and P. J. Hore, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **106** (2), 353 (2009).
13. W. Wiltschko and R. Wiltschko, *J. Compar. Physiol. A* **191** (8), 675 (2005).
14. K. J. Lohmann, *Nature* **464** (7292), 1140 (2010).
15. B. Brocklehurst, *Chem. Soc. Rev.* **31**, 301 (2002).
16. У. Г. Шевченко и В. Л. Бердинский, *Хим. физика* **30** (6), 78 (2011).
17. У. Г. Летута и В. Л. Бердинский, *Изв. РАН. Сер. хим.*, № 7, 1547 (2015).
18. A. L. Buchachenko, *Magnetic isotope effect in chemistry and biochemistry* (Nova Science Publishers, New York, 2009).
19. A. L. Buchachenko, *Rus. Chem. Rev.* **83** (1), 1 (2014).
20. A. L. Buchachenko, D. A. Kuznetsov, S. E. Arkhangel'sky, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**, 10793 (2005).
21. A. L. Buchachenko, D. A. Kuznetsov, S. E. Arkhangel'sky, et al., *Cell Biochem. Biophys.* **43**, 243 (2005).
22. A. L. Buchachenko, D. A. Kuznetsov, N. N. Breslavskaya, et al., *Chem. Phys. Lett.* **505** (4–6), 130 (2011).
23. A. L. Buchachenko, V. P. Chekhonin, A. P. Orlov, and D. A. Kuznetsov, *Int. J. Mol. Medicine and Advance Sciences* **6** (3), 34 (2010).
24. A. L. Buchachenko, A. P. Orlov, D. A. Kuznetsov, and N. N. Breslavskaya. *Chem. Phys. Lett.* **586**, 138 (2013).
25. A. L. Buchachenko, A. P. Orlov, D. A. Kuznetsov, and N. N. Breslavskaya, *Nucl. Acids Res.* **41** (17), 8300 (2013).
26. A. L. Buchachenko and D. A. Kuznetsov, *Am. Chem. Soc.* **130**, 12868 (2008).
27. A. L. Buchachenko, *Magneto-biology and medicine* (Nova Science Publishers, New York, 2014).
28. J. Miyakoshi, *Progr. Biophys. Mol. Biol.* **87**, 213 (2005).
29. У. Г. Летута, Е. И. Авдеева и В. Л. Бердинский, *Изв. РАН. Сер. хим.*, № 5, 1102 (2014).
30. А. Л. Бучаченко и А. М. Вассерман, *Стабильные радикалы* (Химия, М., 1973).
31. U. G. Shevchenko, E. I. Avdeeva, and V. L. Berdinskii, *Rus. J. Phys. Chem. B* **6** (4), 531 (2012).
32. У. Г. Шевченко, В. К. Карандашев, Е. И. Авдеева и др., *Способ изотопного обогащения клеток E.coli*. Патент РФ № 2499042 (2012).
33. Ph. Gerhardt, *Manual of methods for general bacteriology* (American Society for Microbiology, Washington, 1981).
34. Г. Ю. Ломакина, Ю. А. Модестова и Н. Н. Угарова, *Биохимия* **80** (6), 829 (2015).
35. Н. Н. Угарова, М. И. Кокшаров и Г. Ю. Ломакина, *Реагент для определения аденозин-5'-трифосфата*, Патент РФ № 2420594 (2009).
36. E. Goldman and L. H. Green, *Practical Handbook of Microbiology, Second Edition* (Google eBook) (CRC Press, Taylor and Francis Group, USA, 2008).

Influence of Low Magnetic Fields and Magnesium Isotopes on *E. coli* Bacteria

U.G. Letuta, S.N. Letuta, and V.L. Berdinskiy

Orenburg State University, prosp. Pobedy 13, Orenburg, 460018 Russia

The combined effect of external low static magnetic fields at 0–22 mT and magnesium isotopes on the growth and development of *E. coli* bacteria was studied. Magnetic field and magnetic isotope effects of ^{25}Mg were obtained in two ranges: 0.8–3.0 mT and 8–13 mT. Experimental data of the growth rate, CFU and ATP pool for bacteria enriched in magnetic isotope of magnesium ^{25}Mg (nuclear spin $I = 5/2$), are significantly higher in the range 0.8–3.0 mT compared to bacteria, enriched in nonmagnetic isotopes ^{24}Mg , ^{26}Mg or natural magnesium. The increase of the growth rate, colony forming ability and intracellular ATP concentration in bacteria all groups of which have been cultivated exposed to the external static magnetic field in the range of 0.8 to 3.0 mT confirms the existence of magnetosensitive stages of enzymatic reactions. The combined influence of the magnetic fields within the range from 8 to 13 mT and the magnesium magnetic isotope ^{25}Mg on the colony forming ability of *E. coli* bacteria is observed due to the processes responsible for the cell division. The mentioned effects of bacterial magnetosensitivity (magnetic field and magnetic isotope) are in good agreement with the theoretical predictions of a theory of the spin-dependent enzymatic reactions.

Keywords: nuclear spin, magnetic field, magnetosensitivity, magnesium isotopes, E. coli, spin-dependent enzymatic processes, CFU, ATP intracellular content