

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА
ФРАНКА

V МІЖНАРОДНА НАУКОВА КОНФЕРЕНЦІЯ
СТУДЕНТІВ ТА АСПІРАНТІВ

МОЛОДЬ І ПОСТУП
БІОЛОГІЇ

ЗБІРНИК ТЕЗ

ТОМ 2

БІОФІЗИКА; БІОХІМІЯ; ГЕНЕТИКА ТА БІОТЕХНОЛОГІЯ;
МІКРОБІОЛОГІЯ, ВІРУСОЛОГІЯ ТА ІМУНОЛОГІЯ;
МОЛЕКУЛЯРНА ТА КЛІТИННА БІОЛОГІЯ
(12-15 ТРАВНЯ 2009 РОКУ, М. ЛЬВІВ)



ЛЬВІВ – 2009

MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF UKRAINE
IVAN FRANKO NATIONAL UNIVERSITY OF LVIV

V INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE
FOR STUDENTS AND PHD STUDENTS

YOUTH AND PROGRESS OF BIOLOGY

ABSTRACTS BOOK

VOLUME 2

BIOPHYSICS; BIOCHEMISTRY; GENETICS AND BIOTECHNOLOGY;
MICROBIOLOGY, VIROLOGY AND IMMUNOLOGY;
MOLECULAR AND CELL BIOLOGY
(MAY 12-15, 2009, LVIV)



LVIV – 2009

Молодь і поступ біології: збірник тез V Міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів (12-15 травня 2009 року, м. Львів): в 2-х томах. - Т. 2. – Львів, 2009. – 248 с.

Збірник тез конференції містить результати наукової роботи студентів і аспірантів України та зарубіжжя. Збірник розрахований на наукових працівників, аспірантів, студентів, що працюють у галузі біології та біомедицини.

За достовірність викладених наукових даних і текст відповідальність несуть автори.

Організатори конференції висловлюють глибоку подяку Міністерству освіти і науки України, ректорату Львівського національного університету імені Івана Франка, Українсько-американському добродійному фонду "Сейбр-Світло", Товариству Прихильників Львівського університету (The Friends of Lviv University, Inc, USA).

Редакційна колегія: Гнатуш С., Прокопів А., Перетятко Т., Галушка А., Тарновська А., Головчак Н., Білик Б., Перетятко Ю., Генегі А., Кравенська Є., Карпін О., Рабик М., Рішко В., Коровецька Г., Макітринський Р., Мерлавський В., Мироновський М., Нецик О., Дика О., Кушинська М., Юшина О., Яворницька І., Лаврик С., Левицька О., Гнатина О., Качмар Б., Гарайда О.

Науковий комітет: проф. Волгін С. О., проф. Гудзь С. П., проф. Клевець М. Ю., проф. Сангурський Д. І., проф. Сибірна Н. І., проф. Терек О. І., проф. Федоренко В. О., проф. Царик Й. В.

Youth and Progress of Biology: abstracts book of the V International Scientific Conference of Students and PhD Students (May 12-15, 2009, Lviv): 2 volumes. - V. 2. – Lviv, 2009. – 248 p.

Abstracts book contains the results of scientific work of students and PhD students of Ukraine and foreign countries. The book is reckoned on the scientists, PhD students and students, which are working in the field of biology and biomedicine.

The authors are responsible for the trustworthiness of scientific results and for the text.

The organizers of the conference thank the Ministry of Education and Science of Ukraine, the Rector's Office of Ivan Franko National University of Lviv, the Ukrainian-American beneficial fond "Seibr-Svitlo" and The Friends of Lviv University, Inc, USA.

Editorial board: Hnatysh S., Prokopiv A., Peretyatko T., Halushka A., Tarnovska A., Holovchak N., Bilyk B., Peretyatko Y., Henegha A., Kravenska J., Karpyn O., Rabyk M., Rishko V., Korovetska G., Makitrynsky R., Merlavsky V., Myronovsky M., Netsyk O., Dyka O., Kushynska M., Yushyna O., Yavornytska I., Lavryk S., Levytzka O., Gnatyna O., Kachmar B., Garayda O.

Scientific committee: prof. Volgin S. O., prof. Gudzy S. P., prof. Klevets M. Y., prof. Sanagursky D. I., prof. Sybirna N. I., prof. Terek O. I., prof. Fedorenko V. O., prof. Tsaryk Y. V.

ЗМІСТ

БІОФІЗИКА	5
БІОХІМІЯ	19
ГЕНЕТИКА ТА БІОТЕХНОЛОГІЯ	93
МІКРОБІОЛОГІЯ, ВІРУСОЛОГІЯ ТА ІМУНОЛОГІЯ	157
МОЛЕКУЛЯРНА ТА КЛІТИННА БІОЛОГІЯ	227
АВТОРСЬКИЙ ПОКАЗЧИК	241

ТОМ 1: БОТАНІКА; ЕКОЛОГІЯ; ЗООЛОГІЯ; ІНТРОДУКЦІЯ РОСЛИН; ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН; ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН, БІОМЕДИЦИНА.

CONTENTS

BIOPHYSICS	5
BIOCHEMISTRY	19
GENETICS AND BIOTECHNOLOGY	93
MICROBIOLOGY, VIROLOGY AND IMMUNOLOGY	157
MOLECULAR AND CELL BIOLOGY	227
INDEX	241

VOLUME 1: BOTANY; ECOLOGY; ZOOLOGY; PLANTS INTRODUCTION; PLANTS PHYSIOLOGY; HUMAN AND ANIMALS PHYSIOLOGY, BIOMEDICINE.

БІОФІЗИКА / BIOPHYSICS

Безкоровайний А.О., Мандзинець С.М., Бура М.В., Санагурський Д.І.

ЗМІНИ УЛЬТРАСТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ БЛАСТОМЕРІВ ЗАРОДКІВ В'ЮНА ЗА
УМОВ ДІЇ АВЕРМЕКТИНУ*Львівський національний університет імені Івана Франка**вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005**E-mail: manisvit@gmail.com*

На даний час використання нових препаратів, зокрема макроциклічних лактонів, для лікування та профілактики паразитичних інвазій у тваринництві є основним завданням багатьох галузей ветеринарії. Однак введення ефективних ліків у практику потребує детального вивчення дії препарату не тільки на організм паразита, але й на клітини тварин-господарів і біоту навколишнього середовища, у яке відбувається виведення метаболітів. Саме такий комплексний підхід до дослідження впливу нових препаратів стає все більш поширеним у країнах Європи, США та в Україні. Незважаючи на надзвичайну комбінацію активності та спектру дії, включаючи представників нематод і зовнішніх паразитів (бліх, вошей, мух), стійкості, ліпофільності та потенційності (властива потенційність 1 нМ для багатьох видів) у практиці засвідчено незрозумілі летальні випадки, а також наявність різних побічних ефектів як у людей так, і у інших тварин-господарів. Авермектини – 16-ти членні макроциклічні лактони, які володіють антипаразитичними властивостями широкого спектру дії, застосовуються для лікування великої рогатої худоби, овець, коней, кіз, свиней, верблюдів і домашніх улюбленців. Показано, що авермектин та івермектин є летальними для безхребетних і водночас нетоксичними для ссавців. Відомий механізм дії авермектинів – зв'язування авермектину з глутаматзалежними та ГАМК-залежними рецепторами хлорних каналів нейронів і м'язових клітин тварин мішеней, що призводить до зростання проникності іонів хлору та гіперполяризації мембран. Відомі інші місця дії авермектинів на клітини тварин-мішеней, зокрема у наших попередніх дослідженнях встановлено інгібуючий вплив авермектинів на Na^+, K^+ -АТФазу та сумарну Ca^{2+} -АТФазу активність мембран зародків в'юна впродовж раннього ембріогенезу. Оскільки стан систем транспорту іонів Na^+, K^+ та Ca^{2+} та їх концентраційний баланс у клітині має важливе значення для життєдіяльності клітини в цілому, то зміна їх гомеостазу в клітині може спричиняти зміни ультраструктурної організації.

Для встановлення наслідків впливу авермектинів, зокрема авермектину, на клітинному рівні було доцільним провести дослідження ультраструктури клітин зародків. Досліджували вплив авермектину на ультраструктурну організацію бластомерів на стадії 10 поділу бластомерів. В експериментах використовували зародки в'юна, що розвивались у середовищі з авермектином у концентрації 0,01, 0,1 та 1 мкг/мл на стадіях розвитку – від запліднення до 10-го поділу бластомерів. Яйцеклітини отримували методом Нейфаха.

Встановлено, що авермектин у концентрації 0,01 мкг/мл викликає найменш виражені зміни в організації клітинного вмісту, однак спостерігали розширення агранулярного ендоплазматичного ретикулуму (АЕР), відділення рибосом від мембран гранулярного ендоплазматичного ретикулуму (ГЕР), а також порушення структури мітохондрій (набряклість і зменшення кількості крист), збільшення кількості лізосом і травних вакуолей. Мембрани органел втрачають чіткі контури, спостерігається висока електронна щільність гіалоплазми бластомерів. Збільшення концентрації препарату до 0,1 мкг/мл на шосту годину розвитку викликало ознаки протеолізу клітин, збільшення електронної щільності цитоплазми, спричиняло розширення трубочок АЕР. Подальше збільшення концентрації препарату до 1 мкг/мл викликало виражені ознаки некрозу клітини з вираженими ділянками лізису клітини.

Отже, авермектин здатний спричиняти дозозалежні зміни ультраструктури клітин і призводити до некрозу клітин що, ймовірно, є наслідком зміни активності ферментів систем активного транспорту іонів і порушенням іонного гомеостазу клітин.

**Генега А., Бура М., Мандзинець С., Яремкевич О²., Остапів Д.¹, Марінцова Н.²,
Лубенець В.,² Санагурський Д.**

ВИЗНАЧЕННЯ ШВИДКОСТІ ПОГЛИНАННЯ КИСНЮ ЗА ДІЇ ПОХІДНИХ АМІНОКИСЛОТ

Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005,

¹Інститут біології тварин УААН, вул. Стуса, 34, м. Львів, 79034,

²Національний університет «Львівська політехніка», вул. Степана Бандери, 12, м. Львів, 79013

E-mail: biolog@franko.lviv.ua

Актуальним питанням сьогодення є дослідження синтезу нових біологічно активних сполук з подальшим пошуком лікарських препаратів, розробка новітніх технологій їх одержання. Такі біологічно активні речовини, як амінокислоти, виконують найважливіші функції для підтримки процесів гомеостазу в організмах тварин і людини, а декотрі з них використовуються в якості антитоксичних лікарських препаратів. Це пояснюється їх здатністю брати участь в азотистому обміні, в синтезі необхідних для нормальної життєздатності організму білків, ферментів, гормонів, тощо. Синтетичні *N*-похідні 1,4-нафтохінону мають перспективи практичного використання в медицині та фармакології, оскільки володіють низькою токсичністю, проявляють активність у реакціях як з пероксидними, так і з алкільними радикалами, гальмують окиснення при надлишковому й низькому тиску кисню, частково захищають ліпіди при гіпоксії та при небезпечі виникнення інфаркту. Природні хінони та їх похідні показали свою перспективність як інгібітори пероксидного окислення ліпідів при гіпоксичному стані.

Одержані нові низькотоксичні сполуки мають високу протигіпоксичну, протиішемичну та протисудомну дію, можуть використовуватись у фармацевтичній промисловості для створення нових лікарських препаратів з церебропротекторною дією. Тому детальне дослідження впливу похідних нафтохінону на зародкові клітини прісноводної риби в'юна *Misgurnus fossilis* L. в період раннього ембріогенезу є актуальним та перспективним. Воно дасть можливість поглибленого розуміння механізмів біологічної дії цих речовин, поліпшення їх лікувальних властивостей, що матиме вагоме значення для фармакології та медицини.

Оскільки зародки в'юна в період раннього ембріогенезу є адекватною тест-системою для дослідження впливу різних фармакологічних і хімічних чинників на живі організми (Санагурський Д.І., 1983), то мета роботи полягала у з'ясуванні впливу амінокислотних похідних 1,4-нафтохінону (калієвих солей 2-амінокислот-3-хлор-1,4-нафтохінону), а саме глутаміну, на швидкість поглинання кисню зародками в'юна (у концентрації 0,071 мг/мл) упродовж ембріогенезу.

Для визначення швидкості поглинання кисню використовувалась установка, зібрана на основі полярографа (Гойда Е.А., 1993). На основі проведених досліджень можемо зробити висновок, що у порівнянні з контролем показники поглинання кисню за дії амінокислотної похідної 1,4 – нафтохінону глутаміну збільшувались.

Робота виконана за підтримки Державного Фонду Фундаментальних Досліджень (№25.5/075).

Горобець О., Потьомкін М.

ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ «МАГНІТНОГО ПІНЦЕТУ» З ВИКОРИСТАННЯМ ШВИДКО ОСЦИЛЮЮЧОГО МАГНІТНОГО ПОЛЯ У ПОТОЦІ РІДИНИ В БІОЛОГІІ ТА МЕДИЦИНІ

Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут»,

пр. Перемоги, 37, м. Київ, 0356

E-mail: pitbm@ukr.net

Одним із напрямів сучасної фізики є пошук нових і удосконалення існуючих методів маніпулювання мікрочастинками. Ці методи знаходять широке застосування в наукових дослідженнях, у різних галузях діяльності людини, зокрема в біології та медицині. Розвиток сучасної медицини потребує удосконалення методів лікування шляхом доставки дозованої кількості медичних препаратів безпосередньо до місця запалення з використанням кровоносних судин. Засто-

сування методу «магнітного пінцету» в біології надасть можливість досліджувати властивості клітин і молекул у їх природному середовищі. На сьогодні це питання залишається відкритим і триває пошук нових підходів та можливостей, тому використання магнітного пінцету дає можливість застосування цих методів локалізації частинок у біології та медицині.

У цьому зв'язку в даній роботі запропоновано новий метод маніпулювання мікрочастинками. Щоб локалізувати у просторі частинку, яка перебуває під дією магнітного поля, повинна виконуватись умова існування точки, де потенційна енергія сягає свого локального мінімуму, тобто утворюється потенційна яма. Оскільки у постійному магнітному полі для феромагнітної частинки досягнути такого локального мінімуму неможливо [Филипс У.Д., 1999 г.], в даній роботі запропоновано використовувати змінне магнітне поле. Метод перетворення локального максимуму енергії в локальний мінімум за допомогою швидко осцилюючої сили, запропонований академіком Капіцею [Ландау Л.Д., 1965 р.], надає змогу вирішити питання локалізації феромагнітної частинки за допомогою змінного швидкоосцилюючого магнітного поля. Суттєва перевага магнітних полів у тому, що тканини організму людини є інертними щодо впливу магнітного поля. Це забезпечує можливість без шкоди для організму впливати на феромагнітні частинки, які перебувають у ньому. Результати дослідження підтверджують, що локалізація частинки за допомогою методу швидкоосцилюючого поля можлива. У роботі зроблені оцінки характерних напруженості й частоти швидкоосцилюючого змінного магнітного поля, розмірів і обмеження на швидкість потоку рідини, а також чисельно розрахована траєкторія її руху. Використання цього методу дає перспективні можливості створення «магнітного пінцету», застосування якого в медицині надасть можливість наблизитися до вирішення проблеми доставки частинки з ліками у місце розташування онкологічного утворення. Такий підхід забезпечить дію препарату тільки в місці ураження тканин, тим самим позбавляючи увесь організм згубного впливу хімічного препарату.

Зинь А., Головчак Н., Тарновська А., Коцюмбас Г.¹, Санагурський Д.
АКТИВНІСТЬ ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗИ В ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ПТИЦІ
ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ Т-2 ТОКСИКОЗІ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005

¹ *Львівський національний університет ветеринарної медицини і біотехнологій імені С.З.Гжицького*
вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79000
E-mail: golovchak_nataly@ukr.net

Важливе місце в Україні посідають мікотоксини, які становлять реальну загрозу для здоров'я людини, птиці, рогатої худоби, обумовлену широким розповсюдженням у природі, а також високою фізіологічною активністю, досить відчутними економічними втратами (Зайченко А.М., 2001). До мікотоксинів відносять Т-2 токсин, який продукується грибами роду *Fusarium* sp., котрі паразитують на злакових культурах. Т-2 токсикоз проявляється у формі великого некротичного вогнища слизових покривів травної системи, також вражає нервову і серцево-судинну системи, печінку, виявляє імунопригнічуючу дію. Для лікування токсикозів використовують гіпохлорит натрію (ГХН), який перетворює гідрофобні сполуки в гідрофільні. Дослідження проводили на клінічно здорових курах. Птицю розділили на 3 групи по 20 штук у кожній. Першій групі (контрольній) задавали доброякісний, повноцінний корм і поїли водою. Птиці другої і третьої груп 14 днів задавали повноцінний комбікорм і вводили розчин Т-2 токсину (доза токсину – 0,28 мг/кг маси тіла курки відповідала 1/20 ЛД₅₀). З 7 доби птиці III-ї групи вypoювання води замінювали вypoюванням ГХН у дозі 20 мг/л. На 7 та 14 доби декапітували по 5 птиць з кожної групи. Видаляли головний мозок, відбирали мозочок і довгастий мозок, у яких вимірювали активність глутатіонпероксидази (ГПО) (Моин В.М., 1986). При дослідженні встановлено підвищення активності ГПО на 7 і

14-ту доби. Слід зауважити, що в довгастому мозку активність ферменту підвищується інтенсивніше, ніж у мозочку (на 69 % і 115 % щодо контролю). На 14-ту добу експерименту активність ГПО зростає сильніше, ніж на 7-му добу.

Литвин Г., Тесарівська У.¹, Галан М.

ЕЛЕКТРОКІНЕТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЯДЕР КЛІТИН ЛЮДСЬКОГО ОРГАНІЗМУ

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005*

¹Державний контрольний науково-дослідний інститут ветпрепаратів і кормових добавок

Останнім часом досягнуті значні успіхи у визначення структур ДНК геному людини. Згідно зі сучасними уявленнями, тільки незначна частина геному – приблизно 3% ДНК людини бере участь у кодуванні білків, послідовності, що повторюється, складають приблизно 46% ДНК. Але проблема функціональної значущості основної частини геному людини не вирішена до цього часу. Вважаємо, що одним із можливих пояснень збереження у процесі еволюції «некодууючої» ДНК є функціональна роль цієї ДНК в процесах регуляції генної активності, в реакції клітинного ядра на різні стресові дії фізичної та хімічної природи. «Надгенний» рівень регуляції функціонування клітинного ядра відносно маловивчений. Цей рівень охоплює малоспецифічні реакції, які можна спостерігати при дії різних чинників, що значно змінюють функціональну активність ядра. З іншого боку, цей рівень регуляції пов'язаний з тими змінами у морфологічному та функціональному стані цілого ядра, які спостерігаються при тривалій дії слабких чинників, наприклад, при старінні. У дослідженні реакції клітинного ядра при зміні активності клітини і дії зовнішніх чинників, а також різних станів організму, значну роль відіграє метод внутрішньоклітинного мікроелектрофорезу ядер.

Встановлення енергетичного стану людини на рівні клітини за допомогою мікроелектрофорезу є актуальною проблемою у різних галузях біології та медицини. Зміна енергетичного рівня виникає з віком, наслідком цього є поява різних захворювань. Визначення таких змін є важливим для оцінки стану хворого й ефективності застосованих методів лікування.

Метою роботи було дослідження рухливості електрокінетичних ядер клітин букального епітелію та кісткового мозку за допомогою мікроелектрофорезу. Для проведення цитобіофізичного аналізу клітин епітелію та кісткового мозку використовували прилад для внутрішньоклітинного мікроелектрофорезу «Біотест-автокомп'ютеризований», мікроскоп МБІ-4. Електрофорез проводили в режимі, який забезпечує клітинам достатньо тривалу життєздатність (напруга 15 В, сила струму 100 мкА).

У результаті проведених досліджень визначена середньостатистична крива електронегативності ядер (у %) людини, завдяки якій можемо визначати рівень відхилення енергетичного стану пацієнта від норми. Встановлено, що застосування змінного струму з частотою вищою, ніж 1 Гц, та нижчою, ніж 0,1 Гц, призводить до зменшення величини середнього пробігу ядра. Частота 0,2 Гц є оптимальною при дослідженні клітин епітелію. Вперше проведено досліді на клітинах кісткового мозку, досліджено електрокінетичні властивості ядер цих клітин, а також зміну їхніх властивостей після тривалого замороження та за дії різних хімічних речовин.

Нікуліна В., Корнієнко В.

ВІБРАЦІЇ КОРЕНІВ ДЕРЕВ, ЦО ІНДУКОВАНІ ВІТРОМ

*Донецький національний університет
вул. Щорса, 46, м. Донецьк, 83050
E-mail: niku_2003@mail.ru*

Вплив вітру на дерево не лише приводить до розгойдування гілок і стовбура, коливання листків, але й спричиняє зсув та вібрацію коренів. Рухи коренів відбуваються у вертикальних і горизонтальних площинах, також можливі згини та скручення (Нецетов, Хиженков, 2006; Dupuy et al., 2007). Внаслідок механічного закріплення дерева у ґрунті завжди певний його

об'єм переміщується разом із коренями під час розгойдування крони. Якщо середньогодинна швидкість вітру сягає 20-25 м/с на секунду, чи швидкість певних поривів більша 40 м/с, то впливи на дерева та ґрунт максимальні. Це може стати причиною викорінення й обломлення стовбурів (Quine, 1989). В усіх інших випадках, енергія вітру, передана дереву, загасає у ґрунті за рахунок тертя між ним і коренями, внутрішнього тертя ґрунту за пружних та пластичних деформацій (Dunay et al., 2007), спричинених поперемінним стисненням і розтягненням. Метою нашої роботи було дослідження спектральних характеристик вібрацій коренів дуба черешчатого та їх вплив на переміщення наночасток у зразках чорнозему лісового.

Матеріали та методи. Вимірювання вібрацій дуба черешчатого проводили у штучній ясенево-кленовій діброві віком 40-45 років у межах міста Донецька (Україна) за вітряної погоди. Ділянка розташована у верхній третині схилу (8°) північної експозиції. Тип лісорослинних умов – суглинки сухуватий. Зволоження атмосферне. Висота дерева, що тестувалося, 7,5 м, діаметр 0,17 м. Як перетворювач механічних коливань у електричний сигнал використовували відкалібрований п'єзоелектричний датчик, вихід з якого подавали на осцилоскоп HPS-10 фірми «Вілеман» (Бельгія).

Затухання амплітуди вібрацій різняться для різних коренів. Мінімальне значення коефіцієнта затухання вібрацій (2,4 Нп/м) характерне для кореня №1. Коренями №2 та 3 вібрації поширювалися з великим затуханням 3,2 та 4,6 Нп/м відповідно. Такі значення коефіцієнта затухання вказують на зменшення амплітуди пружної хвилі у ~10 разів, під час проходження коренем №1, та в ~100 разів під час проходження коренем №3. Різниця у коефіцієнтах затухання можуть бути пов'язані з відмінностями коренів за механічними властивостями чи за ступенем їх звільнення від ґрунту.

Основні частоти вібрації вивчених коренів лежать у межах від 20 до 150 Гц. Для центрального кореня характерні вищі частоти вібрацій - до 280 Гц. На прикладі кореня №2 продемонстровано, як змінюються спектри за мірою поширення вібрації коренем. На відстані 16 см від основи кореня вібрація характеризується частотною модуляцією, частоти – 50 (модулююча) і 100 Гц (несуча). У спектрі представлено кілька частот, близьких до 100 Гц, але з меншою амплітудою. За збільшення відстані від основи до периферії кореня до 35 см також частково модульовано, але значення модулюючої та несучої частот змістилися до 25 та 85 Гц відповідно. На відстані 80 см від основи несуча частота ~58 Гц, також є близькі до неї нижчі частоти. Сигнал модульовано за амплітудою, модулюючий сигнал < 1 Гц – частота гойдання стовбура. Таке зниження частоти щодо до відстані пов'язане з неоднаковим затуханням пружної хвилі для низьких і високих частот. Тобто поблизу місця пружної деформації спектр більший, ніж на значній відстані від нього. Можливо, певну роль у ньому мають частоти 1кГц та вище. Ультразвукове випромінювання реєструється, принаймні, за водного стресу, коли вода, за негативного тиску заміщується парою, що супроводжується раптовим тиском і звуковим ударом у діапазоні 20-300 кГц (Tyte and Sperry, 1989).

Окань А.

МОДЕЛЮВАННЯ КОЛИВНОЇ ДИНАМІКИ ТРАНСМЕМБРАННОГО ПОТЕНЦІАЛУ В РАНЬОМУ ЕМБРІОГЕНЕЗІ В'ЮНА

Львівський національний університет імені Івана Франка,

вул. Грушевського, 4, 79005 Львів

E-mail: okan_a@ukr.net

У ранньому ембріогенезі в'юна до 6 години розвитку зародка спостерігаються чіткі виражені періодичні коливання трансмембранного потенціалу (Гойда Е. А., 1993).

Причиною коливань ТМП є періодичні зміни концентрацій іонів калію і натрію, які відбуваються внаслідок взаємозалежності активності систем пасивного й активного транспорту іонів. Як раніше було показано (Окань А. М., Санагурський Д. І., 2008), ця взаємозалежність може бути промодельована відомою системою Вольтера-Лотка. В моделі

приймаються дві окремі системи пасивного транспорту для іонів калію і натрію та система активного спряженого транспорту цих іонів (Na^+ , K^+ - помпа). Застосований у цій роботі аналітичний розв'язок системи не давав змоги однозначно відтворити амплітуду коливань концентрацій іонів.

Тому ми провели моделювання безперервної динаміки концентрацій іонів і ТМП (1-7 години ембріонального розвитку), використовуючи числові методи (а саме метод Рунге-Куты зі змінним кроком) розв'язку диференційних рівнянь у Mathcad 2001.

Для цього, виходячи з експериментальних даних (Бериташвили Д. Р., 1969), було описано залежність концентрацій іонів і кінетичних параметрів від часу. Знайдені залежності кінетичних констант підставлені в систему рівнянь, що виражає часову динаміку концентрацій іонів калію та натрію.

Значення ТМП, що забезпечуються концентраціями іонів, знайденими за допомогою даної системи, дещо відхиляються від експериментальних даних.

Для усунення цих неточностей моделі ми врахували вклад Na^+ / Ca^{2+} -обмінника. Система рівнянь, яка описує вклад двох систем пасивного транспорту для іонів калію і натрію, Na^+ , K^+ - помпи і Na^+ / Ca^{2+} -обмінника в коливання концентрацій іонів калію і натрію в клітині, здатна відтворити коливання концентрацій іонів, які забезпечують коливання ТМП, що спостерігається в експерименті за тих же умов.

Падурару О., Болдирев О., Шуба Я.

ЕКСПРЕСІЯ ПІДТИПІВ НИЗЬКОПОРОГОВИХ КАЛЬЦІЄВИХ КАНАЛІВ У ГЛАДЕНЬКИХ М'ЯЗАХ СЕЧОВОГО МІХУРА ЩУРІВ

Міжнародний центр молекулярної фізіології НАН України

Богомольця 4, м. Київ, 01024

E-mail: oksana@biph.kiev.ua

Гладенькі м'язи сечового міхура різних видів ссавців характеризуються різним ступенем спонтанної електричної та скорочувальної активності, яка є важливою для виведення сечі. У багатьох типах клітин генерація хвиль мембранного потенціалу пов'язана з активацією низькопорогових кальцієвих каналів, відомих ще як кальцієві канали Т-типу. Зокрема, на препаратах детрузора (гладенький м'яз сечового міхура) було показано, що специфічні блокатори Т-каналів – Ni^{2+} та мібефрадил здатні пригнічувати частоту генерації спонтанних потенціалів дії. Більше того, на гладеньком'язевих клітинах (ГМК) детрузора людини був зареєстрований низькопороговий Ni^{2+} -чутливий Ca^{2+} струм. Однак, питання про те, які саме підтипи Т-каналів експресуються в ГМК детрузора поки що залишається контраверсійним.

Кальцієві канали Т-типу – це гетерогенна підродина іонних каналів яка включає три підтипи клонованих основних пороформуючих α -субодиниць – Cav3.1, Cav3.2 та Cav3.3, кодованих різними генами. Метою нашої роботи було визначити експресію мРНК цих субодиниць у гладенькому м'язі сечового міхура (детрузорі) щурів. Досліди проводили на статевозрілих щурах лінії Wistar обох статей масою 250-300 гр. Після очищення детрузора від уротелію і сполучної тканини з нього виділяли сумарну матричну РНК, на якій проводили реакції зворотної транскрипції та полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з використанням специфічних до кожного підтипу каналу праймерів.

Отримані результати показали, що в гладеньком'язевих клітинах сечового міхура щурів експресується мРНК практично виключно Cav 3.1 підтипу каналу, тоді як мРНК двох інших підтипів – Cav 3.2 та Cav3.3 присутні тільки в мінімальних кількостях. Цей результат не узгоджується з даними літератури про блокування низькопорогового Ca^{2+} струму ГМК детрузора нікелем, оскільки експерименти з гетерологічної експресії різних підтипів клонованих Т-каналів свідчать, що нікельчутливим є тільки Cav 3.2. Необхідні подальші дослідження для вирішення цього протиріччя.

Пасюга В.

**ВПЛИВ ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ПОЛЯ НИЗЬКОЇ ІНТЕНСИВНОСТІ НА ПРОНИКНІСТЬ
МЕМБРАНИ ТА СТАН ХРОМАТИНУ У ЯДРАХ КЛІТИН ЛЮДИНИ**

Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна

пл. Свободи, 4, Харків, 61077

E-mail: v_pasuga@mail.ru

Мікрохвильове та магнітне опромінювання низької інтенсивності знаходить широке застосування в медицині. Разом з тим, є відомості про негативний вплив низькоенергетичного мікрохвильового опромінювання на стан здоров'я людини [Basset, 1993]. У літературних джерелах є інформація про вплив магнітних і електромагнітних полів на ядро та генетичну інформацію. Виходячи з існуючих теорій первинних механізмів дії магнітних і електромагнітних полів (переорієнтація діаманітних стержнеподібних макромолекул; вплив МП на електричні заряди у клітині, які рухаються), можливо, що електромагнітні поля, викликаючи суттєві зміни у взаєморозташуванні заряджених молекул ДНК та білка, можуть впливати на регуляцію генної активності [Бинги В.Н. Магнітобиологія, 2002]. Усе це обумовлює практичну важливість дослідження біологічних механізмів дії мікрохвильового випромінювання.

Об'єктом дослідження слугували клітини букального епітелію людини шістьох донорів чоловічої статі у віці від 20 до 55 років. У клітинах людини оцінювали кількість гранул гетерохроматину після забарвлення клітин орсеїном. У кожному препараті визначали кількість гранул гетерохроматину в 30 ядрах. Досліджували проникність мембран клітин для вітального барвника індигокарміну (0,5 мМ). У кожному препараті для 100 клітин визначали % клітин, не забарвлених вітальним барвником через 5 хв після початку забарвлювання. Усі досліди повторювали у трьох незалежних експериментах.

Джерело випромінювання генерувало мікрохвилі з частотою 35 ГГц, щільністю потужності на рівні об'єкта 1, 10 та 100 мкВт/см². Час опромінювання – 10 с.

Було показано, що мікрохвильове випромінювання зі щільністю потужності 10 і 100 мкВт/см² підвищує кількість гранул гетерохроматину у клітинах людини. Мікрохвильове випромінювання зі щільністю потужності 1 мкВт/см² не викликає статистично достовірних змін у кількості гранул гетерохроматину.

Мікрохвильове випромінювання зі щільністю потужності 10 і 100 мкВт/см² підвищує проникність мембран клітин для вітального барвника. Мікрохвильове випромінювання зі щільністю потужності 1 мкВт/см² не викликає статистично достовірних змін у проникності мембран для вітального барвника.

Таким чином, нами показано, що чутливість показників стану клітинних мембран та хроматину перебувають на одному рівні. Встановлено, що найменший рівень потужності мікрохвиль, який впливає на стан клітини, становить 10 мкВт/см². Цей рівень значно менший, ніж можна було оцінити за допомогою інших методик [Бровкович и др., 1991; Geletyuk, 1995; Fesenko, 1995; Garaj-Vrhovac, 1990].

Сухомлінова О., Воробйова Т.

КОМП'ЮТЕРНА МОДЕЛЬ РОЗПОДІЛУ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ В ОРГАНІЗМІ

Луганський державний медичний університет

кв. 50-річчя Оборони Луганська, 1, Луганськ, 91045

Математична біофізика вивчає біологічні системи, використовуючи для цього математичні методи. Багато процесів у біології та хімії можна описати за допомогою диференціальних рівнянь або їхніх систем, причому опис як хімічних, так і біологічних процесів потребує використання подібних математичних методів. У доповіді розглядаються випадки застосування методів математики в біології та хімії на прикладі кінетики розподілу лікарського препарату в організмі.

Методи математичного моделювання широко застосовують у фармації. При побудові деякої математичної моделі неможливо враховувати всі фактори системи. Математичне моделювання передбачає деяке спрощення системи і нехтування деталями, що незначно впливають на процес. Предметом розгляду фармакокінетики є зміна в часі концентрації речовини в клітині, органі, тканині або цілому організмі. При цьому звичайно не розглядаються причини зменшення або збільшення концентрації препарату, тобто молекулярні механізми мембранного транспорту, зв'язування та руйнації речовини.

При розгляді цілого організму або якогось органа як одиниці системи було б розумно вибрати клітину. Однак кількість клітин у організмі і навіть в окремому органі така велика, що розглядати кожну з них неможливо. У фармакокінетиці звичайно за одиницю системи приймається камера – частина системи, у якій розподіл препарату можна вважати рівномірним. Залежно від задачі, що розв'язується, за камеру може виступати клітина, орган, тканина і навіть весь організм.

Припущення про рівномірний розподіл препарату в камері з погляду фізіології неприпустиме. Однак якщо перевірка показала адекватність моделі даному процесу, то додаткове введення нових одиниць у розглянуту систему, тобто розбивка фармакокінетичної камери на кілька камер, не буде сприяти підвищенню точності результатів. Введення нових камер може бути обумовлено тільки невідповідністю математичної моделі реальній системі. Залежно від кількості камер фармакокінетичні моделі розділяють на однокамерні, двокамерні та багатокамерні моделі.

Для багатокамерних моделей треба скласти систему з кількох диференціальних рівнянь. Концентрація препарату в якомусь органі залежить від швидкостей кількох процесів, кожен із яких характеризується власною константою. Кожен орган, у якому може знаходитися препарат (кишківник, кров, орган-мішень, видільні органи) представляється у вигляді окремих блоків (камер), у кожному з яких розподіл препарату є однорідним.

На наступному етапі побудови математичної моделі треба розв'язати отримані рівняння, що не завжди можливо в загальному вигляді. У такому випадку їх розв'язують за допомогою обчислювальної техніки.

Результатом роботи є інформаційна модель, що реалізовано в системі комп'ютерної математики MathCad і використовується при вивченні основ диференціального та інтегрального обчислень і диференціальних рівнянь у курсі «Медична та біологічна фізика» з метою демонстрації можливостей застосування методів математичного моделювання в біології та медицині. Ця модель описує систему з трьох камер, що моделює переміщення лікарського препарату в організмі. Комп'ютерна реалізація дає змогу змінювати значення параметрів моделі (початкові концентрації, швидкості процесів тощо), що разом з візуалізацією зміни концентрацій препарату забезпечує простоту і зручність при дослідженні процесів, що моделюються.

Тимків А., Генег А., Бура М., ¹Яремкевич О., Мандзинець С.,

¹Лубенець В., ¹Марінцова Н., Санагурський Д.

АНАЛІЗ ІНГІБУВАЛЬНОГО ВПЛИВУ АЛАНІНВМІСНОГО ПОХІДНОГО 1,4-НАФТОХІНОНУ НА АКТИВНІСТЬ Na^+ , K^+ -АТФАЗИ ЗАРОДКІВ В'ЮНА

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м.Львів, 79005

¹Національний університет «Львівська політехніка»

вул. Степана Бандери, 12, м.Львів, 79013

E-mail: mcelevyach@yahoo.com

Na^+ , K^+ -АТФаза цитоплазматичних мембран клітин має важливе значення для процесів клітинної фізіології та ембріогенезу. Відомо, що збільшення Na^+ , K^+ -АТФазної активності зародків в'юна зумовлює підвищення рівня трансмембранного потенціалу (ТМП) протягом раннього розвитку, які десинхронно нарастають до 6 години розвитку.

Синтетичні N-похідні 1,4-нафтохінону володіють низькою токсичністю, проявляють активність у реакціях з пероксидними і алкільними радикалами, гальмують окиснення при

надлишковому й низькому тиску O_2 , частково захищають ліпіди при гіпоксії та при небезпеці виникнення інфаркту. Оскільки зародки риб у період раннього ембріогенезу є адекватною тест-системою для дослідження впливу різних фармакологічних чинників на організми, мета роботи полягала у з'ясуванні впливу амінокислотних похідного аланіну (калієві солі 2-амінокислот-(β -N-(2-хлор-1,4-нафтохінону)) на активність Na^+ , K^+ -АТФази на різних етапах розвитку в'юна *Misgurnus fossilis* L (2, 16, 64, 256, 1052 бластомерів). Визначення констант напівінгібування I_{50} дозволило проаналізувати чутливість цієї іонтранспортної системи до впливу фторхінолонів протягом синхронних поділів бластомерів. Для більш чіткої характеристики змін Na^+ , K^+ -АТФази плазматичної мембрани зародків за умов впливу проведено аналіз дозо- та часозалежних інгібувальних ефектів цих препаратів на різних стадіях розвитку зародків і визначено константи напівінгібування I_{50} .

Виявлено, що досліджувана речовина зумовлювала значні зміни ферментативної активності Na^+ , K^+ - помпи зародків в'юна, а його інгібувальний ефект посилювався як на ранніх, так і на більш пізніх стадіях розвитку. Про сильну інгібувальну дію протягом синхронних поділів бластомерів свідчать значення I_{50} . Дослідження впливу похідних аланіну на оубаїнчутливу АТФазу активність зародків в'юна встановило, що інгібувальний ефект його досить значний порівняно з дією інших препаратів. Як на перших годинах розвитку, так і на більш пізніх зумовлював менш виражені зміни активності Na^+ , K^+ -АТФази в порівнянні з дією контролю. Протягом усіх досліджуваних стадій значення коефіцієнтів інгібування варіюють що, у свою чергу, свідчить про незначну стійкість Na^+ , K^+ -АТФази до впливу цієї амінокислотної похідної. Тобто потрібні високі концентрації досліджуваної речовини в середовищі, щоб зменшити активність даного фермента плазматичних мембран зародків на 50%.

Слід зазначити, що інгібувальний вплив аланінвмісного похідного 1,4-нафтохінону залежить не тільки від стадії розвитку зародка та від концентрації активної речовини в середовищі інкубації, але й від структури самого полімера. Обчислені значення коефіцієнтів напівінгібування I_{50} можуть свідчити про дещо різні шляхи дії даних препаратів на функціонування Na^+ , K^+ -АТФази протягом розвитку зародків в'юна. Можливо, такі зміни оубаїнчутливої АТФазної активності пов'язані із різним ступенем чутливості даної іонтранспортної системи до дії полімерів та різною швидкістю утворенням метаболітів цих препаратів.

Робота виконана за підтримки Державного Фонду Фундаментальних Досліджень України (Ф.25.5/075).

Тимчак М., Бура М.

УЛЬТРАСТРУКТУРА БЛАСТОМЕРІВ ЗАРОДКІВ В'ЮНА ЗА УМОВ ВПЛИВУ КАТІОНІВ КАДМІЮ ТА МАРГАНЦЮ

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005

E-mail: mcelevych@yahoo.com

Дослідження механізмів поділу клітини є однією з актуальних проблем сучасної науки. Особливої уваги заслуговують зародкові клітини – бластомери, поділ яких являє собою чітко синхронізований ритмічний процес, який перебігає для кожного виду з властивою лише йому швидкістю. Під час розвитку зародків виникає нерівномірний розподіл ферментів між різноманітними органами, тканинами і клітинами, і в першу чергу між бластодермою і жовтком – запасною речовиною зародка. Цей процес контролюється генетичним апаратом ядра, але частково здійснюється за рахунок нерівномірного розподілу в яйці мРНК і білків, синтезованих ще в оогенезі.

На ранніх стадіях ембріогенезу відбуваються суттєві зміни складових структурної поверхні бластодерми зародків, перш за все глікопротеїнів, які беруть участь в міжклітинній адге-

зії та забезпечують взаємодію клітин з біологічно активними речовинами. Вважають, що ці протеїди є однією з основних частин складної надмолекулярної системи регуляції процесів диференціювання та морфогенезу.

Досліджено ультраструктуру клітин зародків в'юна *Misgurnus fossilis* L. на стадії дроблення бластомерів у нормі та за умов впливу катіонів важких металів. При проведенні досліджень використовували хлориди марганцю та кадмію в концентрації 10^{-4} моль/л. Зразки фіксували впродовж години 1,5% розчином глутарового альдегіду в 0,2 М какодилатному буфері (рН 7,2; $t = 4^{\circ}\text{C}$), потім промивали в какодилатному буфері і додатково фіксували 1 год ($t = 4^{\circ}\text{C}$) в 2% розчині OsO_4 у тому ж буфері. Препарати відмивали від фіксаторів і зневоднювали у зростаючих концентраціях етанолу (50%, 70%, 90% і абсолютному – 100%), окису пропілену і поміщали в епоксидну смолу Епон-812. Зрізи отримували на ультрамікротомі УМТП-6, контрастували 15 хв 2%-ним розчином ураніацетату і додатково цитратом свинцю за Рейнольдсом. Перегляд і фотографування зразків виконували на електронному трансмісійному мікроскопі ПЕМ-100.

Електронно-мікроскопічне дослідження клітин зародків в'юна за умов впливу катіонів досліджуваних важких металів показало, що їх ультраструктура характеризувалася низькою електронною щільністю цитоплазми, а також дезорганізацією та набряком органел. Мітохондрії мали збільшені розміри, а їх мембрани та кристи були розпушеними і в окремих місцях утворювали преципітати й коагуляти. У цитоплазмі спостерігалася велика кількість первинних лізосом, комплекс Гольджі був гіпертрофований. Цитоплазма бластомерів містила дезорганізований гранулярний і агранулярний ендоплазматичний ретикулум. Плазматична мембрана, на відміну від контролю, була менш хвилястою, у ряді місць перерваною.

Таким чином, встановлено, що вплив катіонів досліджуваних важких металів призводить до суттєвих змін ультраструктурної організації бластомерів зародків в'юна *Misgurnus fossilis* L. на ранніх стадіях ембріонального розвитку, а це свідчить про ембріотоксичні властивості цих металів.

Щегловітов О., Носаль О., Магура І., Шуба Я.

ВЗАЄМОДІЯ ЗОВНІШНЬОКЛІТИННОГО КАЛЬЦІЮ З $\text{Ca}_v3.2$ КАНАЛАМИ Т-ТИПУ ЗНАЧНОЮ МІРОЮ ЗУМОВЛЮЄ ЇХНІ БІОФІЗИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ

*Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України
Міжнародний центр молекулярної фізіології НАН України
вул. Богомольця 4, м. Київ, 01024
E-mail: elenan_l@ukr.net*

У більшості нативних клітин низькопороговий кальцієвий струм характеризується швидкою кінетикою інактивації. Вважається, що цей струм зумовлений експресією пороутворюючих субодиниць ($\alpha 1$) низькопорогових кальцієвих каналів (НПКК), яким притаманна швидка кінетика інактивації – $\text{Ca}_v3.1$ ($\alpha 1\text{G}$) і $\text{Ca}_v3.2$ ($\alpha 1\text{H}$). Проте, незважаючи на схожість їх кінетичних властивостей, ці канали задіяні у виконаннях зовсім різних фізіологічних функцій. Так, $\text{Ca}_v3.1$ є переважно нейрональним, тоді як $\text{Ca}_v3.2$ здебільшого експресується поза нервовою системою. Особливістю $\text{Ca}_v3.2$ каналу є також його висока чутливість до блокуючої дії Ni^{2+} . Причому ця чутливість зумовлена наявністю у структурі $\text{Ca}_v3.2$ каналу зовнішньоклітинного місця зв'язування Ni^{2+} , визначальним молекулярним елементом якого є амінокислота гістидин, котра перебуває в 191-й позиції IS3–S4 ділянки (H191). Цікаво, що в еквівалентній позиції $\text{Ca}_v3.1$ цей гістидин відсутній. Ми припустили, що із зовнішньоклітинним місцем зв'язування нікелю $\text{Ca}_v3.2$ каналу може також взаємодіяти і Ca^{2+} , завдяки чому він може модулювати біофізичні властивості цього каналу. У даній роботі ми дослідили особливості взаємодії Ca^{2+} з $\text{Ca}_v3.1$ і $\text{Ca}_v3.2$ каналами, функціонально експресованими в ооцитах *Xenopus*, і встановили, що механізми, за допомогою яких Ca^{2+} здійснює свій вплив на іонтранспортну функцію цих каналів, відрізняються. По-перше, ефективність блокуючої дії Ca^{2+} на струм одновалентних катіонів через $\text{Ca}_v3.1$ чітко залежала від мембранного потенціалу: максимальний блок спостерігався при потенціалі -20 мВ і його зменшення відбувалося як при більш позитивних, так і при більш негативних потенціалах.

лах, тоді як пригнічення $\text{Ca}_v3.2$ -опосередкованого струму кальцієм істотно не залежало від мембранного потенціалу в проміжку від -70 до 20 мВ. По-друге, параметри, що характеризують потенціалзалежність каналів – потенціал половинної активації і фактор крутизни виявилися значно більш чутливими до змін зовнішньоклітинної концентрації Ca^{2+} у випадку $\text{Ca}_v3.2$ каналів. Нарешті, дія Ni^{2+} на $\text{Ca}_v3.2$ канали залежала від типу переносника заряду та його концентрації. Отримані нами результати свідчать про наявність додаткового місця зв'язування для дво-валентних катіонів на зовнішньоклітинній поверхні $\text{Ca}_v3.2$ каналу, через яке, зокрема, Ca^{2+} може алостерично модулювати як потенціалзалежність, так і проникність цього каналу.

Юшина О., Буря М., Мандзинець С., Ференсович Я., Білий О.

**ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ЗАРОДКІВ І ЛИЧИНОК
В'ЮНА *MISGURNUS FOSSILIS* L. ПРИ ОПРОМІНЕННІ СИНІМ СВІТЛОМ**

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005

E-mail: olena-yu@ukr.net

Перекисне окиснення ліпідів є однією із первинних реакцій на етапі фізико-хімічних перетворень, що відбуваються в клітині, і здатні призводити до незворотних змін структури мембран. Світло є одним із головних фізичних факторів, природним фізіологічним подразником, що підтримує життєдіяльність організмів, лікувальні властивості якого відомі давно. Останні роки у медицині, лазерній та фотодинамічній терапіях поряд із лазерним випромінюванням застосовують і потужні світлодіоди, котрі порівняно з першими є доволі конкурентноздатними. Для кращого розуміння механізмів впливу випромінювання світлодіодів на біологічні об'єкти доцільно дослідити вплив такого випромінювання на деякі показники перекисного окиснення ліпідів і на розвиток зародків в'юна *Misgurnus fossilis* L., які є тест-системою для дослідження фізичних та хімічних чинників.

Проведено дослідження впливу випромінювання синього світлодіода на розвиток зародків і личинок в'юна від запліднення до 5 доби розвитку. Яйцеклітини отримували методом А. Нейфаха. Овуляцію стимулювали внутрішньом'язовим введенням самкам хоріогонічного гонадотропіну (500 од.). Запліднення ікри проводили в чашках Петрі, додаючи суспензію спермій. Ікру відмивали від спермій та інкубували в розчині Гольтфрета (t=21-22°C). Опромінювали синім ($\lambda = 530$ нм) світлодіодом «AVAGO» ASMT M BOO - NAE00 PBF потужністю 1 Вт і рефлектором «Гаєн» - FC-M2-XR79-OR для фокусування випромінювання у площині, протягом 5 хв. на стадіях 2, 16, 64 бластомерів і на стадіях 8 та 10 поділів. На кожній зі стадій визначали інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів за вмістом малонового діальдегіду (МДА) (Стальная И.Д., 1977; Тимирбулатов Р.Р., 1981). Вміст білка визначали за методом Лоурі. Зародки на перших стадіях розвитку контролювали візуально під бінокулярним мікроскопом МБС-9.

Встановлено що при опроміненні світлодіодом зі синім типом світла упродовж 5 хв. на стадіях 2, 16, 64 бластомерів і на стадіях 8 та 10 поділів вміст МДА порівняно із показниками контролю незначно збільшився. Це свідчить про те, що зародки в'юна чутливо реагують на дію світлодіода зі синім типом світла, що, у свою чергу, проявляється ініціацією процесів ліпопероксидації.

Gaidar S.¹, Chashchyn M.¹, Cantiello H.F.²

**MEASUREMENT OF MICROTUBULE SURFACE CHARGE DENSITY FROM DONNAN
EQUILIBRIUM POTENTIAL**

¹*Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine, Zabolotny St., 150, Kyiv - 143, 03143, Ukraine*

²*Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School*

E-mail: s.o.gaidar@imb.org.ua

Microtubules (MTs) are important components of the cellular cytoskeleton, which are implicated in neuronal morphology and functions such as vesicle trafficking, neurite formation, differen-

tiation and morphological changes. The structural and functional properties of MTs depend on their high surface charge density. Little is known about the electric properties of microtubules, which are considered to underlie microtubular polymerization and electrostatic interactions with other proteins such as microtubule-associated proteins. Here we investigate the electrical properties of microtubules. We report on measurements of Donnan equilibrium potential developed by MTs in solution, to assess their surface charge density. Donnan equilibrium potential of a solution containing 0.5 mg/ml of tubulin was in the order of -3 mV in 150 mM KCl saline. Such high Donnan potential is consistent with a very high linear charge density of the order of 1.4 e/nm. These data indicate that MTs in living cells may display properties that support ion condensation and behave as highly charged polyelectrolytes.

Horbay R., Klyuchyvska O., Skvarko K., Sanagurskiy D.

MORPHOFUNCTIONAL DESCRIPTION OF MESENCHIMA CELLS IRRADIATION

Ivan Franko National University of Lviv

Grushevskiy st., 4, Lviv, 79005, Ukraine

E-mail: rosthor@gmail.com, icb17752004@mail.ru

By analysing the laser irradiation effect on animal cells as a doping-hypothesis we turned to existing information and our own researches. We decided to make several experiments on different tissue cell types to confirm the given hypothesis. The aim was to estimate the depended on dose action and distant in time effect on mesenchimal cells: normal (BALB 3T3) and transformed (L 929) murine fibroblast, Jurkat (acute T cell human leukaemia) and J 774.2 (murine macrophage) where obtained from the cell culture collections at R. Ye. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, National Academy of Sciences of Ukraine (Kyiv, Ukraine)

Experiments where performed after cyt. Stoika (2004). Mitochondrias been studied with the use of JC-1 (mitochondrial membrane potential detection kit), which detects apoptosis and necrosis stages. All experiments and statistic analysis were repeated three times with three parallel tests in each variant. The results where considered as certain and the difference certainty "p" was less than 0.05.

The cells where exposed to 4 minute ($0,1 \text{ J/cm}^2$), 10 minute ($0,25 \text{ J/cm}^2$), 20 minute ($0,5 \text{ J/cm}^2$), 40 minute (1 J/cm^2) and 60 minute ($1,5 \text{ J/cm}^2$) scanned mode laser irradiation. The indexes of cells where counted through next 15 days with the use of lysosomal (acredine orange) and mitochondrial (JC1) marks. The leucocytes where also exposed to a repeated irradiation.

Laser irradiation influences differently on blood cell mitochondrias and lysosomes. Lysosomal metabolism in fibroblasts is getting increased, meanwhile at the mitochondrias is getting lower. The second irradiation caused death by all types of used cells. At high irradiation doses an expression of transforming phenotype took place in a cell. In all experiment series with the use of JC1 was show that in the apoptotic cellular cytoplasm where inflammations and a violation took pace in the mitochondrias (as a proof – intensive red light glow). It is first seen by the use of JC-1.

Horbay R., Skrypa I., Skvarko K., Sanagurskiy D.

GROWTH AND DEVELOPMENT OF SEEDS AFTER LASER IRRADIATION BELAMCANDA CHINENSIS (L.) DC INTRODUCTION DESCRIPTIONS SEEDPHOTOACTIVATION

Ivan Franko National University of Lviv

Tscheremchyny St., 44, Lviv, 79014, Ukraine

E-mail: biolog@franko.lviv.ua

The purpose was to find a way of passing a complete plant ontogenesis cycle from seed to seed in introduction conditions. We probed the laser irradiation on *Belamcanda chinensis* (L.) DC seed growth and development at the Ivan Franko National University of Lvov botanical garden. *Belamcanda chinensis* (L.) DC is a grass perennial of Iridaceae family, in nature can be found at the Seashore of Russia, in Vietnam, India, Korea, China and Japan. It's been cultivated in many European countries as a decorative and in Asia it's a valuable in medicine. Initial seeds where brought from a botanical garden in France.

Before sowing the seeds were irradiated by monochromatic ($\lambda=628,3$ nm), He-Ne laser in scanned mode ($f_{\text{cdr}}=87$ Hz, $f_{\text{row}}=14$ Hz, $P=0,8-1,0$ mVt/cm²), continuous ($P=1,0-1,2$ mVt/cm²) and for comparison, red light mode ($\lambda=668$ nm, $P=0,8-1,0$ mVt/cm²). The dry seeds were exposed to rays of 0,02-0,04 J (scanned mode), 0,6 J (continuous mode) and 60 minutes – red light. The seeds were carried over on moistened filtration paper in Petri cups and abandoned in a thermostat at a 24°C temperature. Twenty days after plants were carried over on Gelrigel environment and oboned in the vegetation room conditions (temperature 22-24°C) with natural illumination. Forty days later plants grew in vegetation boxes, and in July where reared on the experimental botanical garden area. In the implementation works process we conducted a seed and plant growth biometrical analysis after K.O.Skvarko (1994) and phenotype supervision.

Research conductions were in on an experimental area in laboratory terms after M.K. Firsov (1955) and I.N. Baydman (1974). In Spring the counterfoils that were carried over on soil in July. Buds appeared in first half of July, flowering began in second decade in July and ended in beginning October. The flowering duration took 50-60 days, fruiting duration – 70-80 days. One individual can form 2-5 generative counterfoils, each has $20,3\pm5,4$ flowers, $12,5\pm1,6$ eggformed fruits, $125\pm24,5$ dark-blue round seeds. 1000 seed weight $34,8\pm0,18$ g.

The continuous and scanned mode irradiation by a laser stimulates seed growth in different measures (scanned – 20-30%, continuous – up to 15%). The dispersion analysis has shown that the laser photostimulation increases the rootgrowth by the continuous irradiation mode up to 1,5-33,5% in comparison to normal; after scanned irradiation mode – up to 31,7-50,9%. At the end of vegetation the seed productivity raised on 25,8%(continuous), and on 27,1%(scanned 0,04 J).

Before sowing laser irradiation increases seed indexes and can be recommended as a stimulation factor for growth processes by the introduction of a plant.

Siemiączko J.1, Surkont J. 2, Korzeniowski B.1

FACTORS LIMITING MAXIMAL OXYGEN UPTAKE IN HUMANS

*1Department Biophysics, Faculty of Biochemistry,
Biophysics and Biotechnology, Jagiellonian University
Gronostajowa 7, 30-387 Krakow, Poland*

*2Department of Physical Biochemistry, Faculty of Biochemistry,
Biophysics and Biotechnology, Jagiellonian University,
Gronostajowa 7, 30-387 Krakow, Poland*

E-mail: kuba.siem@yahoo.pl

VO₂max is defined as maximal amount of oxygen which can be taken up during high intensive exercise. It is a very useful rate, which shows man's predisposition to practice endurance sports and actual competitor's condition.

First works which deal with VO₂max were made by Hill and Lupton who suggested that (1) there is an upper limit of VO₂; (2) there are interindividual differences in VO₂max; (3) high VO₂max is necessary to be a good middle and long distance runner; (4) VO₂max is limited primarily by cardiovascular system. The first three assumptions are demonstrated to be true. Subsequent researches concentrated on the last one. They show that with change of oxygen delivery, VO₂max is also altered accordingly. Secondly, endurance training increases VO₂max primarily by increasing maximal cardiac output. Moreover, during small muscle mass exercise extremely high amount of oxygen can be utilized per muscle mass. For quantitative studies of relationship between factors limiting VO₂max and muscle mass, a computer model of oxygen transport to and within human skeletal muscle during single limb exercise and whole body exercise was developed. It shows that an increase of working muscle mass at some concrete intensity leads to drop in oxygen concentration in muscle cells to nearly zero. Therefore, the ability of cardiovascular system to deliver oxygen limits VO₂max and the maximal amount of oxygen consumption per muscle mass is definitely higher during single muscle exercise than during whole-body exercise (e.g. cycling).

Voitychuk O., Moibenko O., Shuba Y.

FLUORINE-CONTAINING VASODILATOR FLOCALIN MODULATES
HEART MUSCLE ELECTRICAL EXCITABILITY THROUGH ACTIVATION
OF PLASMA MEMBRANE ATP-SENSITIVE POTASSIUM CHANNEL

Bogomoletz Institute of Physiology and International Centre of Molecular Physiology NASU, Kyiv

E-mail: v_oleg@biph.kiev.ua

Cardiac-specific ATP-sensitive potassium channel (KATP) channel consists of four pore-forming Kir6.2 subunits and four regulatory sulphonylurea receptor subtype SUR2A subunits associating into functional heterooctamer in plasma membrane. Hypotensive drug flocalin is fluorine-containing analogue of KATP opener pinacidil (Yagupolskii L.M. et al., 2001). Flocalin is less toxic and more stable in living species. It is known to decrease peripheral vessels resistance and heart rate and to relax smooth muscles of ureter.

We studied the modulation by flocalin of electrical activity of neonatal cardiac myocytes. 5 μ M flocalin significantly decreased action potential duration and hyperpolarized resting membrane potential of both ventricular-type and atrial-type myocytes. Spontaneously beating cells decreased contraction rate after flocalin application. Prolonged application of 5 μ M flocalin caused cessation of evoked or spontaneous contraction in 30% of cells. Action potential amplitude and on-rate as well as the amplitude of inward sodium current were apparently not changed by flocalin.

Flocalin in concentration of 10 μ M also reversibly activated substantial potassium current in HEK293 cells stably expressing Kir6.2 and SUR2A proteins. The activated current was sensitive to blockade by sulphonylurea receptor inhibitor glibenclamide.

Our results suggest main physiological action of flocalin as activation of KATP subfamily of inward rectifier potassium channels. Inhibition by flocalin of calcium entry into cytosol directly or indirectly via KATP channel-mediated hyperpolarization, as indicated by the cessation of contractions of isolated myocytes, also cannot be excluded.

БІОХІМІЯ / BIOCHEMISTRY**Аверіна А., Жулай В.****ПОКАЗНИКИ ВМІСТУ ФОРМЕНИХ ЕЛЕМЕНТІВ КРОВІ КРОЛІВ У СТАНІ ШТУЧНОГО ГІПОБІОЗУ ТА ПРИ ДІЇ ХОЛОДОВОГО ЧИННИКА***Національний університет біоресурсів і природокористування України**E-mail: VitaliyZhulay@twin.nauu.kiev.ua*

Наукові пошуки молекулярних механізмів переходу і перебування тварин у стані природного і штучного зниження життєдіяльності належать до найактуальніших проблем біології і мають надзвичайно важливе значення для розробки нових та модифікації існуючих способів консервування біологічних об'єктів, загального знеболення організму, боротьби з хворобами тварин і людей та ін.

Значну роль у виникненні стану гіпобіозу та перебування тварин у ньому відіграє такий фактор, як зміна концентрації основних форм вуглекислоти ($p\text{CO}_2$ і HCO_3^-), що було доведено зокрема дослідниками кафедри біохімії тварин, якості і безпеки сільськогосподарської продукції ім. М.Гулого Національного університету біоресурсів і природокористування України.

Доведеною є також роль вуглекислоти, як чинника, що впливає на швидкість та направленість метаболічних процесів в цілому і на окремі клітини й тканини безпосередньо.

Досліджуючи роль бікарбонату натрію та вуглекислого газу у збереженні формених елементів консервованої крові, ми в значній мірі користувалися результатами власних досліджень. Згідно них, кров, яка була консервована середовищем, що містить різні форми вугільної кислоти, має значно кращі біохімічні характеристики в порівнянні з тією, що консервовалась звичайним глюкозо-цитратним гемоконсервантом.

В процесі даної роботи нами було визначено кількість еритроцитів, різних форм лейкоцитів та вміст гемоглобіну за умов моделювання стану штучного вуглекислотного гіпобіозу у кролів та під дією холодового чинника.

Дослід було присвячено з'ясуванню складу формених елементів крові у двох дослідних груп кролів, одну з яких вводили у стан штучного вуглекислотного гіпобіозу при паралельному охолодженні а іншу піддавали лише дії холодового чинника, у порівнянні з контролем.

За результатами проведених досліджень у вмісті еритроцитів спостерігалася тенденція до зростання як у стані штучного гіпобіозу, так і при дії холодового чинника.

Спостерігалось також незначне зниження рівня лейкоцитів у стані штучного гіпобіозу та підвищення на 46% при дії холодового чинника у порівнянні з контролем.

Кількість паличкоядерних та сегментоядерних майже не змінювалась протягом дослід у обох дослідних групах тварин, а вміст еозинофілів та базофілів зростав у 2,3 та 2 рази відповідно у стані гіпобіозу та у 3 і 4,5 рази при дії лише холодового чинника.

У вмісті лімфоцитів спостерігається тенденція до зниження в обох дослідних групах тварин, у порівнянні з контролем. Кількість моноцитів у стані штучного гіпобіозу незначно зростала, а при дії холодового чинника навпаки знижувалась.

Отже, як холододовий чинник безпосередньо, так і його поєднання з вуглекислотним гіпобіозом суттєво впливає на вміст формених елементів у крові кролів.

Бабійчук Т., Семчишин Г.**ПЕРЕХРЕСНІ АДАПТАЦІЇ У ДРІЖДЖІВ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE****Прикарпатський національний університет ім. Василя Стефаника,**Вул. Шевченка, 57, м. Івано-Франківськ, 76025, Україна**E-mail: semchyshyn@pu.if.ua*

Відомо, що пероксид водню та етиловий спирт у високих концентраціях мають негативний вплив на клітини дріжджів, спричинюючи стресові умови. Проте м'який стрес здатний під-

вищувати виживання клітин, адаптуючи їх до летальних умов. Метою роботи було дослідити вплив сублетальних концентрацій пероксиду водню та етилового спирту на адаптаційний потенціал пекарських дріжджів за дії стресу. У дослідженнях використовували штам *Saccharomyces cerevisiae* YPH250 (дикий тип, *MATa trp1-Δ1 leu2-Δ200 lys2-801 leu2-Δ1 ade2-101 ura3-52*). Культури дріжджів вирощували протягом 24 год (стаціонарна фаза) за умов аерації в середовищі, яке містило 1% дріжджового екстракту, 2% пептону і 2% глюкози. Стрес індукували 15% та 20% етанолу протягом 60 хв або 50 мМ пероксидом водню протягом 30 хв. Перед обробкою етиловим спиртом клітини дріжджів піддавали дії пероксиду водню наступних концентрацій: 0,05 мМ, 0,25 мМ і 0,5 мМ. Для передадаптації до стресу, індукованого високими концентраціями пероксиду водню, клітини інкубували з 1%, 2,5%, 5% етиловим спиртом. В результаті досліджень було показано, що виживання дріжджів за даних умов знижувалося як під дією високих концентрацій пероксиду водню (1 мМ, 5 мМ, 10 мМ, 25 мМ, 50 мМ), так і під дією високих концентрацій етанолу (1%, 2,5%, 5%, 10%, 15%, 20%). Попередня обробка суспензії дріжджів пероксидом водню у концентрації 0,05 мМ, 0,25 мМ і 0,5 мМ в 1,4-2,0 рази підвищувала виживання дріжджів за дії високих концентрацій етилового спирту. Крім того, виживання клітин, попередньо інкубованих з 1%, 2,5%, 5%, етиловим спиртом за дії високих концентрацій пероксидом водню було вищим на 20%, ніж виживання дріжджів без передадаптації. Отже, сублетальні концентрації пероксиду водню та етилового спирту можуть бути використані для перехресних адаптацій з метою покращення виживання дріжджів за умов летального стресу.

Бадзюх О., Ворошилова Н.

ВМІСТ КАЛЬЦІЮ ТА МАГНІЮ В КРОВІ ЩУРІВ ЗАЛЕЖНО ВІД ВІКУ

Національний університет біоресурсів і природокористування України

Вул. Потєхіна, 16 03041, м.Київ

Кальцій являється незамінним для життєдіяльності організму людини та тварини макроелементом. Численними дослідженнями встановлено, що вміст кальцію та магнію в організмі схильні до вікових коливань. Необхідність у цьому макроелементі безперечна. кальцій та магній беруть участь у багатьох метаболічних процесах в клітинах, в енергетичних процесах в мітохондріях та у генерації потенціалу дії у нервових і м'язових клітинах, впливають на проникність біологічних мембран, скорочувальну здатність міокарду, матки, сприяють вивільненню та фізіологічній дії медіаторів й гормонів (Авцин А.П., 1991). Гомеостаз кальцію та магнію в крові являється результатом рівноваги процесів їхнього всмоктування у кишечнику, обміну в кістках, реабсорбції й виведення нирками.

Відомо, що потреба кальцію в організмі зростаючої людини є більшою, а з віком його вміст в тканинах зменшується (Трахтенберг І.М., 2005). Водночас макроелемент магній являється антагоністом кальцію і з віком вміст магнію в організмі тварин зростає, але меншою мірою, ніж кальцій та фосфор.

Накопичення кальцію тканинами та вимивання його з кісток призводить до зниження тривалості життя, розвитку серцевої недостатності, вікового імунодефіциту та ін. (Коломієць А.А., 1998).

Враховуюче вищенаведене, метою роботи було дослідження вмісту кальцію та магнію в крові щурів 3-, 6- та 18-місячного віку.

Дослід проводився на базі кафедри біохімії тварин, якості і безпеки сільськогосподарської продукції ім. акад. М.Ф. Гулого. Дослідження проведені на безпородних щурах різного віку: молоді (3 місяці), статевозрілі (6 місяців), старі (18 місяців). Вміст кальцію та магнію досліджували в плазмі крові на біохімічному аналізаторі "Microlab 200" (Нідерланди). Визначення вмісту макроелементів проводилось за методиками, які визначені інструкціями, із застосуванням стандартних наборів реактивів фірми HUMAN UKRAINE (Україна).

Результатами проведених досліджень встановлено поступове зниження вмісту кальцію в крові щурів з віком. Так, в крові щурів 6-місячного віку вміст кальцію вірогідно знижений на 21,2 %, у щурів 18-місячного віку – на 14 %, порівняно з його вмістом в крові щурів 3-місячного віку. Вміст магнію в крові щурів 6-місячного віку вірогідно не змінюється, нато-

мість у щурів 18-місячного віку він знижений на 23,2 %, порівняно з його вмістом в крові щурів 3-місячного віку.

Отже, зміни вмісту кальцію та магнію в крові щурів у віковому аспекті свідчить про можливість зміну гомеостатичних механізмів, що відбиваються в організмі з віком, а також про пригнічення гормональної функції, яка бере участь у перерозподілі макроелементів в організмі тварин.

Балюта Т., Мельникова Н.

ОСОБЛИВОСТІ ВМІСТУ КАДМІЮ В СЕРЦІ ТА ЛЕГЕНЯХ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ЗАЛЕЖНО ВІД ЗМІН КИСЛОТНО-ЛУЖНОГО СТАНУ ОРГАНІЗМУ

Національний університет біоресурсів і природокористування України

Вул.Потєхїна, 16, м. Київ, 03041

Сучасне широке промислове виробництво, хімізація побуту, розвиток автомобільної індустрії зумовлюють значне забруднення довкілля важкими металами, особливо кадмієм. У роботах багаточисельних авторів показана негативна дія кадмію на нервову, серцево-судинну, ендокринну та інші системи організму (Мельникова Н.М., 2007). Встановлено, що кадмій зменшує резистентність організму до інфекцій, підвищує ризик розвитку онкологічних та аутоімунних патологій (Трахтенберг І.М., 2005). Проте, механізм метаболічних порушень за умов отруєнь кадмієм вивчений не до кінця.

Кислотно-лужний стан є одним із важливих механізмів регуляції життєдіяльності організму та характеризує стан дихальних й метаболічних змін, які розвиваються з віком. Відомо, що змінюючи параметри кислотно-лужного стану організму можна впливати на корекцію вмісту важких металів в організмі тварин (Мельничук Д.О., 2006).

Враховуючи актуальність даної проблеми, метою роботи було дослідження вмісту кадмію в серці та легенях отруєних щурів 3-, 6- та 18-місячного віку в умовах змін параметрів кислотно-лужного стану організму.

Дослід проводився на базі кафедри біохімії тварин, якості і безпеки сільськогосподарської продукції ім. акад. М.Ф. Гулого. У досліді використано безпородних щурів різних вікових груп: молоді (3 місяці), статевозрілі (6 місяців), старі (18 місяців). Дослідження проведені за наступною схемою: I група – інтактні щури; II група – щури, отруєні кадмію сульфатом внутрішньочеревно в дозі 0,134 мг/100г ваги тварини, що становить 1/50 DL₅₀; III та IV групи – щури, отруєні кадмію сульфатом і введені у стан експериментального метаболічного ацидозу та алкалозу відповідно. Дослід тривав 28 дб, після чого проводили декапітацію щурів під легким етерним наркозом. Для визначення вмісту кадмію зразки серця та легень готували методом сухого озолення. Вміст кадмію в досліджуваних зразках визначали на атомно-адсорбційному спектрофотометрі ААС – 30 (Німеччина).

Відомо, що кадмій здатний накопичуватися в різних органах і тканинах, особливо в печінці та нирках за рахунок зв'язування з особливими білками металотіонеїнами (Мельникова Н.М., 2007). Результатами проведених досліджень встановлено збільшення вмісту кадмію в серці та легенях щурів 3-, 6- та 18-місячного віку. Так, у щурів 3-місячного віку вміст кадмію є вищим в середньому у 37 разів, у щурів 6-місячного віку – в 40 та 36 разів, у щурів 18-місячного віку – в 28 та 14,6 разів відповідно, порівняно з його вмістом в інтактних тварин відповідних вікових груп.

В отруєних щурів 3-місячного віку та введенних у стан метаболічного ацидозу, у серці та легенях вміст кадмію є вірогідно нижчим на 19,4 %, порівняно з його вмістом в отруєних тварин. Натомість в стані метаболічного алкалозу – вірогідних змін вмісту кадмію не встановлено. У щурів 6- та 18-місячного віку в серці та легенях спостерігається лише тенденція до зниження вмісту кадмію, порівняно з отруєними тваринами.

Таким чином, більш виражена корекція вмісту кадмію встановлена у серці та легенях отруєних тварин 3-місячного віку за використання біологічної моделі стану метаболічного ацидозу, який, можливо, зумовлює перехід кадмію в іонізований стан, що може впливати на зменшення утворення його комплексів з білковими структурами.

Бервен О., Дворченко К., Гайда Л.

СИСТЕМА АНТИРАДИКАЛЬНОГО ЗАХИСТУ ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ ПРИ ДІЇ ПОШКОДЖУЮЧИХ ФАКТОРІВ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Проспект Глушкова, 2, Київ, 03022

E-mail: k21@univ.kiev.ua

Вплив пошкоджуючих факторів на організм призводить до погіршення стану здоров'я людини та розвитку різноманітних захворювань. Факторами ризику проявлення та загострення багатьох хвороб є стреси, які постійно супроводжують життя людини. За оцінками сучасної медицини важливим пошкоджуючим агентом, що призводить до токсичних ефектів, є етиловий спирт, надмірне використання якого притаманне значної кількості населення багатьох країн.

При дії негативних факторів на організм значного навантаження зазнає печінка, яка відіграє ключову роль у метаболізмі. Фізіологічне функціонування цього органу залежить від ефективності роботи її антиоксидантної системи, яка постійно знешкоджує потенційно загрозливі для клітин речовини.

В зв'язку з цим, метою нашої роботи було визначити стан антиоксидантного захисту гепатоцитів щурів за умов дії стресу та етанолу.

Матеріали і методи досліджень. У досліджах використовували щурів лінії Вістар обох статей вагою 180-230 г., яких утримували на стандартному раціоні віварію. В експериментах створювали модель імобілізаційного водоімерсійного холодового стресу. 96% етанол вводили перорально з розрахунку 1 мл на 200 г ваги тварини. Гепатоцити з печінки щурів виділяли неферментативним шляхом. Активність супероксиддисмутази у клітинах визначали з використанням нітросинього тетразолію. Оцінку каталазної активності у гепатоцитах проводили за Королюк. Ферментативну активність глутатіонпероксидази визначали по накопиченню окисненого глутатіону, а глутатіон-S-трансферазну активність оцінювали за швидкістю утворення хромогенного глутатіонового кон'югату з 1-хлор-2,4-динітробензолом. Вміст відновленого глутатіону визначали за Matsumoto. Статистичну обробку результатів дослідження проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики. Вірогідність різниці між контрольними та дослідними вимірами оцінювали за t-критерієм Ст'юдента.

Результати досліджень. Встановлено, що при стресі в гепатоцитах щурів знижується ферментативна активність супероксиддисмутази та каталази, відповідно на 60% та 49%, при цьому зростає активність глутатіонпероксидази - на 34% і глутатіонтрансферази - на 49% та вміст відновленого глутатіону - на 143% відносно контролю. При дії етанолу в клітинах печінки збільшується ферментативна активність супероксиддисмутази, каталази і глутатіонтрансферази, відповідно на 43%, 60% і 24%, при цьому знижується активність глутатіонпероксидази та рівень відновленого глутатіону, відповідно на 35% і 55% відносно контрольних тварин.

Таким чином, за умов дії стресу та етанолу на організм щурів у гепатоцитах порушується окисно-антиоксидантна рівновага, що свідчить про інтенсифікацію в клітинах печінки вільнорадикальних процесів.

Білашко Ю., Деркач Є.

ОНТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ВМІСТУ ЗАГАЛЬНОГО БІЛКА В КРОВІ ТВАРИН ЗА УМОВ ОТРУЄННЯ ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ

Національний університет біоресурсів і природокористування України

У зв'язку зі зростанням концентрації важких металів у навколишньому середовищі, надзвичайно актуальною проблемою є дослідження механізму їх токсичної дії з урахуванням вікового аспекту.

В основі реалізації токсичної дії даного токсиканту є пошкодження молекулярних структур клітини (нуклеїнових кислот, білків, ферментів, ліпідів, біологічних мембран) реакційно-здатними метаболітами і активними формами кисню, що утворюються в результаті мікросомального окиснення ксенобіотика та активації процесів перекисного окиснення ліпідів.

В той же час багато аспектів даної проблеми вивчено недостатньо, зокрема залишається відкритим питання динаміки змін біохімічних показників в отруєному організмі на різних етапах онтогенезу.

Метою нашої роботи було дослідження вікових особливостей вмісту загального білка в крові щурів за отруєння кадмієм.

Дослід проведено на щурах трьох вікових груп: 3-місячного віку (період статевого дозрівання; молоді), 6-місячного віку (період статевої зрілості, дорослі) і 18-місячного віку (період старості; старі).

Кадмієвий токсикоз викликали шляхом щоденного внутрішньочеревного введення кадмію сульфату в 0,9 % розчині натрій хлориду, з розрахунку 0,134 мг/100 г ваги, що становить 1/50 LD₅₀ (Трахтенберг И. М., 1994).

Результатами наших досліджень встановлено, що найбільш виражені зміни концентрації загального білка відмічено в молодому організмі.

Показано, що рівень загального білка у крові отруєних щурів 3-місячного віку знижується на 13,9 % відносно інтактної групи, що є свідченням порушення білосинтетичних процесів в отруєному організмі. З іншого боку, під дією іонів важких металів спостерігається посилений розпад білків, та пригнічення функціонування орнітинового циклу Кребса.

Слід відмітити, що з віком, за умов отруєння організму кадмію сульфатом, біохімічні показники набувають змін меншого ступеню.

При цьому найменш виражені зміни відмічаються у щурів 18-місячного віку. Вміст загального білка в крові отруєних щурів періоду старіння знижується на 11,7 % по відношенню до тварин інтактної групи, що, на наш погляд, пов'язується з пригніченням процесів синтезу білка та зниженням реактивних можливостей організму в період старіння.

Божков А.

БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ГІДРОЛІТИЧНИХ КОМПОНЕНТІВ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна

Пл. Свободи, 4, м. Харків, 61077

E-mail: bozhkov@univer.kharkov.ua

Як біологічно активна субстанція був використаний гідролізат дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Гідролізат одержували шляхом обробки дріжджів ферментативним комплексом, отриманим у процесі культивування *Chaetomium globosum* Kunze. Залишки клітинних стінок дріжджів видаляли центрифугуванням при 3000 об/хв.

У роботі були проведені дві серії експериментів, у яких визначали вплив гідролізату на активність аланін і аспаратамінотрансфераз і вміст імуноглобулінів у сироватці крові щурів лінії Вістар. Було виявлено, що одержання тваринами протягом 15 днів (щоденний прийом по 1,5 мл гідролізату, що містить 0,4 мг білка на 100 г маси тварини) гідролізату супроводжувалося невеликим, але досить стабільним збільшенням активності аспаратамінотрансферази (ефект зберігався не менш 15 днів після прийому) (АлТ - вихідний рівень $0,440 \pm 0,043$, у досліді - $0,520 \pm 0,49$, а АсТ - вихідний рівень - $0,743 \pm 0,058$, у досліді - $0,806 \pm 0,069$).

Визначення деяких показників активності імунної системи показало, що активність комплекменту в сироватці крові через 30 днів після одержання гідролізату дріжджів у дозі 1,5 мл на 100 г протягом 15 днів не змінювалася в порівнянні з контрольним рівнем. Вміст імуноглобуліну А в сироватці крові експериментальних тварин збільшувався ($0,75 \pm 0,03$ проти $0,42 \pm 0,03$ у контролі). У той же час вміст IgM і IgG залишався незмінним.

Отже, прийом гідролізату протягом 15 днів щодня по 1,5 мл/100 г маси тварини не впливав на активність комплементу, незначно збільшував активність амінотрансфераз і концентрацію IgA в інтактних тварин, тобто проявлявся регуляторний і модулюючий ефект.

Можна думати, що біологічно активні сполуки, що містяться в гідролізатах дріжджів, можуть робити позитивний ефект на організм у випадку різних передпатологій. Патологію печінки індукували багаторазовим введенням в організм сірчаною кислотою, як описано раніше [Божков А.И., Длубовская В.Л., Линник М.А., Шаббани М., Белоус А.М. //Доповіді НАНУ, 1998].

Розвиток індукованого гепатиту супроводжувався збільшенням IgA, IgM, IgG в 3 рази, в 4 рази й на 40 % відповідно в порівнянні з контролем.

Прийом гідролізату дріжджів протягом 15 днів супроводжувався повною нормалізацією вмісту всіх фракцій імуноглобулінів.

Отже, біологічно активні речовини гідролізату дріжджів забезпечували нормалізацію змін імунної системи.

Бокотей І., Савицька О.

НОВІ ПІДХОДИ У ВИВЧЕННІ РОЛІ ІОН-ТРАНСПОРТУВАЛЬНИХ МЕХАНІЗМІВ У РОЗВИТКУ ЗБУРЕНЬ ІОННОГО ГОМЕОСТАЗУ ЗА ХРОНІЧНОГО ВПЛИВУ АЛКОГОЛЮ

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

Нерівномірність розподілу іонів обабіч плазматичної мембрани (іонна асиметрія) підтримується комплексом регуляторних систем, серед яких особливо важливими є механізми транслокації іонів натрію. Проблема виникнення і розвитку іонних мембранопатій у осіб, що страждають на хронічний алкоголізм, та в лабораторних щурів, що зазнали довготривалої етанолової інтоксикації, є предметом наукового інтересу співробітників сектору біофізики Центральної науково-дослідної лабораторії, кафедри психіатрії, медичної психології та сексології, кафедри біологічної хімії ЛНМУ. Отримані ними дані клінічних та експериментальних досліджень висвітлені в численних публікаціях. Їх перелік наведено в укладеному Олександром Мороз, Іриною Влох, Андрієм Шкаволяком бібліографічному покажчику «Дослідження функцій та дисфункцій іон-транспортних механізмів. – Львів-Ліга прес, 2004. – 104 с».

Основною метою цих фундаментальних досліджень було встановлення біохімічних характеристик транспортерів, за посередництвом яких здійснюється транслокація моновалентних іонів за фізіологічних умов та за збурень іонного гомеостазу, зумовлених алкогольною інтоксикацією. Зокрема проведено вимірювання концентрацій іонів натрію та калію в еритроцитах та плазмі крові, обчислено індекс "калій/натрій" встановлено активність натрій, калій-АТФази – основного ферменту, за посередництвом якого здійснюється активний транспорт натрію. Разом з тим, наведено нові дані, які вказують на доцільність встановлення параметрів раніше не ідентифікованих способів іонної транслокації – натрій,калій-котранспорту, натрій,калій,хлор-котранспорту, натрій,літій-протитранспорту та механізму, функціонування якого підтримує стабільність клітинного об'єму та внутрішньоклітинного рН – натрій/водень-протитранспорту.

В теперішній час основна увага співробітників вказаних вище підрозділів ЛНМУ приділяється проведенню прикладних досліджень, основна мета яких – встановлення чутливості окремих параметрів іон-транспортних механізмів до гострої та хронічної алкогольної інтоксикації, що сприяє виокремленню показників, які слугуватимуть біохімічними маркерами патологічних станів, що є корисним також для визначення ефективності лічних засобів, застосованих в терапії алкоголізму.

Стає очевидним, що чим більша кількість транспортерів братиме участь у здійсненні процесів транспорту іонів, тим меншою буде ймовірність виникнення в організмі збурень іонного гомеостазу.

Боровікова Є., Ткаченко Т.

НАКОПИЧЕННЯ СВИНЦЮ В КРОВІ, ПЕЧІНЦІ ТА НИРКАХ ОТРУЄНИХ ЩУРІВ

Національний університет біоресурсів і природокористування України

03041 м. Київ, вул. Потехіна 16, навч. корп. №12

E-mail: tkach1982@gmail.com

Серед забруднювачів довкілля провідні позиції за токсичністю і небезпечністю для організму тварини і людини посідають сполуки свинцю. Цей важкий метал відноситься до висококумулятивних отрут, які мають здатність проявляти токсичний вплив лише за умови проникнення в клітини та характеризуються повільним виведенням із організму і політропністю дії (Трахтенберг І.М., 1994).

Характер розподілу свинцю і ступінь його накопичення залежить від спорідненості до різних структур та біохімічних компонентів тканин і органів, міцності утворених комплексів та швидкості їх елімінації. Відомо, що свинець, який всмоктався у шлунково-кишковому тракті, насамперед потрапляє в кровообіг і саме через кров розподіляється між тканинами і органами (Гжегоцький М.Р., 2006). Оскільки для більшості важких металів органами-мішенями є печінка і нирки, метою нашої роботи було дослідити накопичення свинцю в крові, печінці та нирках отруєних щурів.

Дослідження проводились на базі кафедри біохімії тварин, якості та безпеки сільськогосподарської продукції ім. акад. М.Ф. Гулого, Української лабораторії якості і безпеки продукції АПК та віварію факультету ветеринарної медицини. В експерименті використовували білих лабораторних щурів масою тіла 220-240г. Дослідні щури були розділені на дві групи, по 8 тварин у кожній: 1 група – інтактні щури; 2 група – щури, отруєні свинцю ацетатом $\text{Pb}(\text{Ac})_2$ у дозі 5 мг/100г маси тіла тварини. Тривалість дослідження складала 27 діб. Експеримент проводили відповідно до конвенції Ради Європи щодо захисту хребетних тварин, яких використовують у наукових цілях. Вміст свинцю в крові, печінці, нирках щурів визначали на атомно-абсорбційному спектрофотометрі ААС-30, Німеччина.

Результатами проведених досліджень встановлено, що отруєння щурів свинцю ацетатом призводить до вірогідного збільшення вмісту свинцю в крові в 2 рази відносно аналогічного показника у інтактних щурів. У печінці отруєних щурів вміст свинцю також збільшився в 1,6 рази порівняно з інтактними тваринами. Оскільки печінка є основним органом, який виконує функцію детоксикації в організмі, накопичення в ній свинцю може бути спричинене зв'язуванням його з металоглобулінами, велика кількість яких міститься в цьому органі (Барабой В.А., 2003).

Аналогічні зміни відмічали і в нирках отруєних щурів, де вміст важкого металу збільшився в 1,3 рази, що, очевидно, пов'язане з його активною фіксацією нирковими протеїнами та утворенням в клітинах ниркових каналців внутрішньоядерних включень, які містять комплекси металу з білками (Fowler В.А., 1994).

Таким чином, отримані результати свідчать про значне збільшення вмісту свинцю в крові, печінці та нирках. Очевидно, роль печінки і нирок як органів-мішеней при дії важких металів обумовлена специфічністю функцій цих органів, посиленням кровопостачання та інтенсивним перебігом обмінних процесів в їх клітинах.

Бучковська І., Копильчук Г.

5'-НУКЛЕОТИДАЗНА АКТИВНІСТЬ У ПЕЧІНЦІ ТА СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ІЗ ТРАНСПЛАНТОВАНОЮ КАРЦИНОМОЮ ГЕРЕНА

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича

E-mail: ivannabuchkovska@mail.ru

5'-нуклеотидаза, або 5'-мононуклеотидаза (К.Ф. 3.1.3.5) – один із важливих ферментів метаболізму пуринів, який каталізує дефосфорилування нуклеозид-5'-фосфатів. Типовими субстратами є АМФ та ІМФ.

5'-нуклеотидаза – в числі перших ферментів, які виходять у кров при пошкодженні плазмолем, а тому може розглядатися як маркер структурної деградації фосфоліпідного бішару мембран (Пікуза О.І., 2005). Часто даний фермент використовують для оцінки функціонального стану печінки при захворюваннях, які не стосуються безпосередньо даного органу (Кленова Н.А., 2006), а також виявлення метастазування в печінку при онкогенезі (Гриневич Ю.А., Югринова Л.Г., 2008).

Мета даної роботи – дослідити 5'-нуклеотидазну активність у печінці та сироватці крові щурів-пухлиноносців на різних етапах росту карциноми Герена в організмі.

Результати досліджень показали зростання активності даного фермента в печінці в 1,3-1,7 рази порівняно з показниками контрольної групи тварин впродовж усього періоду росту новоутворення.

Імовірно, що підвищення ферментативної активності 5'-нуклеотидази на латентній та логарифмічній стадіях пухлинного росту відображає активацію процесів катаболізму нуклеотидів із утворенням аденозину (Якубовський С.М., 2001, Маяцкая Е.Е., 2003), який може стимулювати аденілатциклазу та утворення цАМФ, як внутрішньоклітинного месенджера, у відповідь на появу стресового фактора, яким є неоплазма, в організмі (Андрушкевич В.В., 2003).

На стадії метастазування пухлини підвищення нуклеотидазної активності в печінці в 1,7 рази порівняно з контролем, можливо, пов'язане із посиленням процесів деградації ДНК, що було показано в наших попередніх роботах (Копильчук Г.П., Шмараков І.О., 2005, 2006) і, очевидно, посиленням розпадом нуклеотидів.

Встановлене підвищення нуклеотидазної активності в 1,7-3,5 рази в сироватці крові досліджуваних тварин відбувається, ймовірно, у відповідь на надходження у кров низькомолекулярних фрагментів ДНК і підвищення ДНК-азної активності (Шмараков, 2005) та утворення вільних нуклеотидів. З іншого боку, факт зростання нуклеотидазної активності можна пов'язати з деструкцією клітинних мембран, яка за умов патології відбувається в першу чергу.

Відомо, що 5'-нуклеотидаза існує в двох формах – цитозольній і мембранозв'язаній (екто-5'-нуклеотидаза). Екто-5'-нуклеотидаза зв'язується з плазмолемою за допомогою глікозидфосфатиділінозиту, так званого ГФІ-якоря (Данилова В.М., 2003). Вірогідно, що зростання показника нуклеотидазної активності в сироватці крові у 3,5 рази в порівнянні з контролем відбувається саме за рахунок екто-5'-нуклеотидази, оскільки при пошкодженні клітинних мембран порушується структура ГФІ-якоря.

Отже, підвищення 5'-нуклеотидазної активності в печінці щурів-пухлиноносців на різних етапах росту карциноми Герена засвідчує інтенсифікацію процесів розпаду нуклеотидів, що може мати безпосередній вплив і на реплікативні процеси. Одночасне збільшення активності даного ферменту в сироватці крові, очевидно, зумовлене деструкцією мембран гепатоцитів.

Васильків О.

ІНАКТИВАЦІЯ ВІЛЬНИМИ РАДИКАЛАМИ ЧАСТКОВО ОЧИЩЕНОЇ ЛАКТАТДЕГІДРОГЕНАЗИ З БІЛИХ М'ЯЗІВ І ПЕЧІНКИ КАРАСЯ СРІБЛЯСТОГО (*CARASSIUS AURATUS* L.)

*Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника, Івано-Франківськ 76025, Україна
E-mail: lushchak@pu.if.ua*

Лактатдегідрогеназа (ЛДГ), хоча і відносно резистентна, проте може інактивуватись активними формами кисню (АФК) (Fridovich, 1998, Лушак, 2007). Метою даної роботи було дослідження характеру інактивації ЛДГ карася сріблястого в системі $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$.

ЛДГ одержували з печінки і білих м'язів карася, яких перед експериментом витримували протягом тижня в акваріумі з відстояною водою і аерацією. Виділяли ЛДГ, висолюючи білок кристалічним сульфатом амонію при температурі 0 °С. Концентрація білка в інкубаційній суміші під час інкубації в системі $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ була 10 мкг/мл. У кожному випадку активність ЛДГ визначали у двох зразках: 1) фермент інкубували в дистильованій воді; 2) фермент інкубували з додаванням перексиду водню та сульфату заліза.

Ми встановили, що після інактивації ЛДГ протягом 2,5 хв у 50 мкМ FeSO_4 (за відсутності H_2O_2) активність ферменту знижувалась на 52%. Коли ж фермент інактивували у присутності 10 мМ H_2O_2 та 50 мкМ FeSO_4 , його активність становила 20% від початкової.

При інкубації ферменту протягом 5 хв з H_2O_2 (10–50 мМ) і FeSO_4 (20–500 мкМ), приблизно половина початкової активності втрачалась. Подальше збільшення часу інактивації ферменту в суміші, де проводили інактивацію, незначно впливало на його активність. Ступінь інактивації ферменту зростала при збільшенні концентрації йонів заліза й пероксиду водню. В даній роботі ми також досліджували вплив калій-фосфатного буферу (КФБ) і HEPES (N-2-гідроксиетил піперазин N'-2 етансульфонова кислота) на процес інактивації ЛДГ, для цього у середовище інактивації додавали або 25 мМ КФБ (pH 7,0) або 25 мМ HEPES (pH 7,0). Нами виявлено, що інактивація ферменту за присутності HEPES відбувається дещо швидше, порівняно з використанням калій-фосфатного буферу. Наприклад, при інактивації ЛДГ з печінки 30 мМ H_2O_2 та 20 мкМ FeSO_4 після 5 хв інкубації у калій-фосфатному буфері, активність вірогідно знижувалась до 80%, а HEPES – до 60%. Збільшення часу інактивації призводило до достовірного зниження активності, зокрема, на 20 хв інкубації активність ферменту при додаванні калій-фосфатного буферу становила 72%, а при додаванні HEPES – 57%. Подібний характер інактивації спостерігався і при інактивації ЛДГ з білих м'язів.

Таким чином, результати наших експериментів свідчать про те, що в системі $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ відбувається інактивація лактатдегідрогенази, проте механізм інактивації залишається невідомим. За зазначених умов спостерігається зменшення максимальної активності цього ферменту, що може бути свідченням відповідного зменшення кількості його активних молекул.

Вичерова В., Кліх Л.

АКТИВНІСТЬ ЛУЖНОЇ ФОСФАТАЗИ КРОВІ ТВАРИН ЗА УМОВ СТРОНЦІЄВОГО ОТРУЄННЯ

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: magystr_dep@twin.nauu.kiev.ua

В умовах сучасної екологічної кризи однією з актуальних проблем є забруднення навколишнього середовища техногенними хімічними сполуками, в тому числі і важкими металами. З позиції сучасної токсикології та тісно пов'язаних з нею гігієни і медичної екології, правомірно задати питання, наскільки серйозна сьогодні небезпека так званих хвороб цивілізації і порушень здоров'я, викликаних такими забруднювачами [Мудрий І.В., 2002]. У зв'язку з активною діяльністю людини в навколишнє середовище інтенсивно викидаються стабільні ізотопи стронцію, які по ланцюгах живлення потрапляють в організм тварин та людини. Вивчення кругообігу важких металів в останній час ще більше зросло у зв'язку з різким погіршенням стану навколишнього середовища, викликаним, зокрема, забрудненням води, ґрунту, рослин, а отже і продуктів харчування солями різних важких металів, у тому числі – стронцію. В невеликих кількостях стронцій зустрічається в усіх органах і тканинах тварин та людини. Надлишок стронцію в їжі негативно впливає на розвиток тварин. Особливо це помітно в біогеохімічних провінціях – районах, що характеризуються високим вмістом стронцію в воді і ґрунтах, де спостерігаються захворювання людей і тварин на стронцієвий рахіт забруднювачами [Засєкін Д.А., 2004].

Метою даної роботи було вивчення впливу солей стронцію на активність лужної фосфатази (ЛФ) крові кролів. Для досліджень були використані молоді самці кролів, породи «Радянська шиншила». Дослідження були виконані на двох групах тварин, в кожному з яких було відібрано по 5 кролів; перша група - контрольна, в якій були використані інтактні кролі,

друга – тварини, отруєні стронцію хлоридом в дозах $1/30 LD_{50}$. Дослід тривав 14 діб. Для

проведення досліджень відбирали зразки крові. Активність лужної фосфатази визначали з використанням приладу «Мікролаб» 200 (Нідерланди). Результати оброблені статистично.

Одержані дані свідчать про підвищення активності лужної фосфатази на 35 % у порівнянні з контролем. З літературних даних відомо, що стронцій є хімічним аналогом кальцію забруднювачами. Він являється постійним супутником кальцію як в живій, так і в неживій природі. Для стронцію властивий скелетний тип розподілу у хребетних тварин. Накопичуючись в кістковій тканині він проявляє токсичну дію на остеобласти, змінюючи структуру і мінеральний склад кісткової тканини за рахунок заміщення кальцію в гідроксиапатиті, і в кінцевому результаті отруєння цим металом призводить до остеомаліції. Лужна фосфатаза є основним маркером кісткового метаболізму [Верховський В.В., Сулима В.С., 2005]. Підвищення активності цього ферменту може свідчити про руйнування кісткової тканини – остеопороз та супроводжуючу його остеомаліцію.

Таким чином сполуки важких металів, до яких належать і солі стронцію, здатні підвищувати активність лужної фосфатази крові, деструктивно впливаючи на кісткову тканину. Зважаючи на вищесказане, можна зробити висновок, що стабільний стронцій володіє високою біологічною активністю. У зв'язку з цим, питання профілактики його негативної дії на організм тварин та людини потребує досліджень ступеня токсичності і характеру викликаних ним порушень у стані здоров'я та уточнення існуючих гігієнічних нормативів гранично допустимих концентрацій їх солей в об'єктах довкілля. Реалізація таких завдань в свою чергу відкриває перспективи створення і впровадження як системи прогнозування безпосередніх і віддалених ефектів токсичної дії важких металів, так і комплексу сучасних профілактичних заходів.

Вичерова Ю., Кліх Л.

МІНЕРАЛЬНИЙ СКЛАД НИРОК ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЦЕЗІЄВОГО ОТРУЄННЯ

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: magystr_dep@twin.nauu.kiev.ua

Порушення хімічної рівноваги в біосфері, що відмічається впродовж останніх десятиріч, призводить до виникнення цілої низки патологій в організмі людини і тварин. Слід зазначити, що на загальному фоні несприятливої екологічної ситуації, яка виникла в Україні, на думку багатьох спеціалістів, політика в області екології не відповідає в повній мірі серйозності ситуації, що склалася, оскільки нині практично відбувається ліквідація не причин екологічної кризи, а лише її наслідків [Трахтенберг І.М., 2004]. Серед важких металів, що забруднюють навколишнє середовище, особливе місце займають іони цезій, які мігруючи через біологічні ланцюги, потрапляють в організм тварин та людини. Всі важкі метали, в тому числі і цезій, за літературними даними активно виводяться через сечовидільну систему. Нирки – органи видільної системи. В середньому їх маса становить 0,5 % загальної маси тварини. Основні функції нирок – виділення кінцевих продуктів обміну речовин і підтримання сталості складу рідин організму. Мінеральні речовини становлять 1,1-1,2% сухої маси нирок. Основну частину мінеральних речовин у нирках займають калій, натрій, кальцій магній та інші елементи [Головкова Т.А., 2002]. Як відомо, проблема токсикології важких металів, віднесених в останні роки до числа глобальних забруднювачів навколишнього середовища, являється традиційною для українських дослідників [Власик Л.І., 2003]. Однак в розробці цієї складної проблеми ще є ряд пробілів, заповнення яких потребує подальших досліджень з позиції біохімічної токсикології. Так, незважаючи на значний експериментальний та клінічний матеріал, що накопичився в попередні роки, до цього часу залишаються нерозкритими окремі аспекти вивчення впливу цезієвої інтоксикації на мінеральний склад нирок отруєного організму.

Метою нашої роботи було вивчення впливу стабільного цезію на вміст іонів натрію, калію, кальцію та магнію в тканинах нирок експериментальних тварин. Дослідження прово-

дилися на самцях білих лабораторних щурів, вагою 180 – 200 г, віком 4 місяці. Тваринам вводили водний розчин цезію хлориду внутрішньочеревинно протягом 14 діб в концентрації 0,01г/100г живої ваги. Вміст цезію, натрію, калію кальцію та магнію визначали на атомно-адсорбційному спектрофотометрі ААС–30 (Німеччина). Результати оброблені статистично.

В нирках, які являються основним «фільтром» організму, рівень цезію зріс більш ніж у 29 разів, що може бути зв'язано з інтенсифікацією процесів виведення його з отруєного організму. Введення цезію хлориду спричинило зміну вмісту окремих макроелементів у нирках експериментальних щурів, при чому спостерігалось зменшення вмісту натрію у 1,62 рази, калію – у 1,62 рази та магнію – у 1,51 рази. Вміст кальцію в нирках отруєних щурів підвищився у 1,27 рази. Значне зниження вмісту натрію, калію та магнію у нирках отруєних щурів, очевидно, є результатом перерозподілу цих хімічних елементів, який виникає в результаті введення щурам цезію хлориду. Таке явище можна пояснити з позицій конкурентної взаємодії між цезієм та відповідними елементами. Окрім того виявлені зміни вмісту окремих мікроелементів, очевидно є наслідком впливу цезію на функціонування органів і систем, які забезпечують водно-сольовий і кислотно-лужний гомеостаз та проявляються в порушенні метаболічних процесів в організмі отруєних щурів.

Таким чином, цезій спричиняє токсичний вплив на організм щурів, змінюючи розподіл окремих макроелементів у тканинах печінки отруєних щурів

Волошук О.

ВПЛИВ НИЗЬКОДОЗОВОГО ОПРОМІНЕННЯ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ ВКЛЮЧЕННЯ [³H]-ТИМІДИНУ В МТДНК ПЕЧІНКИ ЩУРІВ З ТРАНСПЛАНТОВАНОЮ КАРЦИНОМОЮ ГЕРЕНА

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича

E-mail: oxbm@mail.ru

Метою нашої роботи було вивчення інтенсивності процесів включення [³H]-тимідину в мтДНК печінки щурів з трансплантованою карциномою Герена в динаміці розвитку пухлини.

Трансплантація карциноми Герена на фоні попереднього опромінення призводить до активації процесів включення [³H]-тимідину в мтДНК печінки на латентній і логарифмічній стадії пухлинного росту у порівнянні як з неопроміненими пухлиноносіями, так і опроміненими здоровими щурами. При цьому, інтенсивність включення [³H]-тимідину і вміст мтДНК досягає максимуму в період активного росту новоутворення. Активацію синтезу мтДНК при окиснючому стресі можна розглядати як компенсаторну реакцію клітин, пов'язану з виникненням дефіциту енергії в них в результаті пошкодження мтДНК. Очевидно, для компенсації дефіциту енергії, який виникає в тканинах опромінених тварин, з'являється необхідність збільшення кількості копій мтДНК і біогенезу мітохондрій. Механізмом, який забезпечує підвищення рівня синтезу мтДНК в опромінених пухлиноносіях, може бути утворення фрагментованих молекул мтДНК. Так, пошкодження мтДНК внаслідок інтенсифікації генерації супероксид аніон-радикалу у відповідь на опромінення і трансплантацію пухлини супроводжується, як нами встановлено, появою молекул з вкороченою контурною довжиною, які, ймовірно, швидше реплікуються в порівнянні з нативними молекулами мтДНК.

На термінальних етапах онкогенезу інтенсивність включення [³H]-тимідину в мтДНК печінки попередньо опромінених пухлиноносіїв знижується до рівня неопромінених тварин з карциномою Герена. Водночас відбувається зниження кількості мтДНК.

Отже, розвиток карциноми Герена у попередньо опроміненому організмі порівняно з неопроміненими пухлиноносіями супроводжується активацією процесів включення [³H]-тимідину в мтДНК та підвищенням вмісту мтДНК печінки на початкових етапах онкогенезу з тенденцією до зниження досліджуваних показників на термінальних етапах росту новоутворення на фоні посилення фрагментації мтДНК печінки.

Волощук О., Копильчук Г.

**ОСОБЛИВОСТІ ДЕСТРУКЦІЇ МІТОХОНДРІЙ ПУХЛИННИХ КЛІТИН
В ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ КАРЦИНОМИ ГЕРЕНА**

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича

E-mail: oxbm@mail.ru

Послідовність біохімічних реакцій, які визначають розвиток та реалізацію деструкції мітохондрій пухлинних клітин в динаміці росту злоякісного новоутворення, залишається відкритим питанням та потребує детального вивчення.

Результати проведених досліджень показали, що посилення генерації супероксид аніон-радикалу в мітохондріальній фракції трансформованих клітин супроводжується збільшенням проникливості мітохондріальних мембран, що реєстрували за високоамплітудним набуханням мітохондрій. Посилення набухання мітохондрій спостерігалось протягом усього експерименту, максимальний рівень зафіксований на термінальних етапах пухлинного росту, що в свою чергу супроводжувалося втратою мітохондріями трансформованої тканини шурів-пухлиноносіїв здатності регулювати свій об'єм.

Оскільки високоамплітудне набухання супроводжується індукцією неспецифічної проникливості мітохондріальних мембран і зниженням мембранного потенціалу (Hantz H.L. et al., 2005), то виражене набухання мітохондрій в динаміці розвитку карциноми Герена може призводити до втрати органелами їх основної функції – здатності синтезувати АТР і служити джерелом його внутрішньоклітинних запасів. У зв'язку із участю системи АТР-синтази – АТР-ази у спряженні процесів синтезу АТР, генерації трансмембранного потенціалу, актуальним було дослідження активності протонної АТР-ази. Проведені дослідження показали, що підвищення проникливості мітохондріальних мембран на логарифмічній стадії розвитку новоутворення супроводжується зниженням H^+ -АТР-азної активності вдвічі порівняно з показниками, встановленими на латентній стадії онкогенезу. Подальший ріст новоутворення в організмі пухлиноносія відбувається на фоні збереження відміченого рівня H^+ -АТР-азної активності, незважаючи на посилення інтенсивності набухання мітохондрій пухлинної тканини. Окрім того, в динаміці розвитку карциноми Герена спостерігається гальмування сукцинатдегідрогеназної активності, причому на log-стадії пухлинного росту досліджувана ферментативна активність у 2,8 рази нижча порівняно із латентною стадією, із збереженням відміченого рівня на термінальних етапах пухлиногенезу.

Порушення досліджуваних ферментативних активностей на фоні інтенсифікації вільнорадикальних процесів у мітохондріальній фракції трансформованої тканини супроводжується кількісними змінами вмісту основних органел енергетичного обміну. Результати проведених досліджень показали, що розвиток у організмі тварин пухлинного зародку характеризується зниженням вмісту мітохондрій. На стадії активного росту карциноми Герена у трансформованій тканині спостерігається зменшення кількості мітохондрій у 2 рази порівняно із латентною стадією пухлинного росту. Подальший розвиток злоякісного новоутворення супроводжується збереженням відміченої тенденції щодо вмісту мітохондрій у пухлинній тканині. Оскільки величина популяції мітохондрій є похідним двох протилежно спрямованих і одночасно протікаючих процесів – біогенезу і деградації органел (Гостев В.И. та ін., 2002), то відмічене зменшення вмісту мітохондрій може бути пов'язане із зниженням швидкості утворення і росту популяції цих органел або з їх посиленою деструкцією.

Отже, в динаміці розвитку карциноми Герена спостерігається інтенсифікація вільнорадикальних процесів у мітохондріях пухлинних клітин, що веде до посилення проникливості мітохондріальних мембран, порушення активності мембранозв'язаних ферментів, та зменшення вмісту мітохондрій, що може розглядатися як одна із можливих ланок порушення функціонування основних органел енергетичного обміну при онкогенезі.

Галенова Т., Конопельнюк В., Рахметов А., Кот Л., Остапченко Л.

**РІВЕНЬ ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ
ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МОДЕЛІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2-ГО ТИПУ**

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Пр. Глушкова, 2, м. Київ; 03127

Цукровий діабет 2 типу (ЦД) – хронічне ендокринно-обмінне захворювання, характерними ознаками якого є інсулінорезистентність та зниження синтезу інсуліну бета-клітинами підшлункової залози. В останні роки багато досліджень направлено на з'ясування ролі прозапальних цитокінів у зниженні інсулінопродукуючої функції бета-клітин та розвитку інсулінорезистентності.

Метою роботи було визначити вміст ТНФа та ІФН γ у сироватці крові щурів за умов експериментальної моделі цукрового діабету 2 типу.

Досліди проводили на білих нелінійних щурах масою 230-250 г. Експериментальний ЦД викликали одноразовим внутрішньочеревним введенням новонародженим щурятм стрептозотоцину з розрахунку 80 мг на 1 кг маси тіла (Hemmings, Spafford, 2000). Розвиток ЦД у піддослідних тварин встановлювали через 180 діб на основі неодноразового виявлення рівня глюкози в крові натще 7,0 ммоль/л і вище та за показниками інсулінорезистентності. Індекс чутливості периферичних тканин до інсуліну визначали за допомогою комп'ютерної обробки даних глюкозотолерантного тесту. Рівень ТНФа та ІФН γ в сироватці крові щурів визначали використовуючи набори Biotrak ELISA System фірми «Healthcare».

У результаті досліджень встановлено, що за умов експериментального ЦД рівень ТНФа у сироватці крові щурів зростає у 1,6 рази порівняно з контрольними значеннями ($150 \pm 12,5$ та $94 \pm 8,9$ пг/мл відповідно; $p < 0,05$). Вміст ІФН γ за таких умов знижувався в 4 рази порівняно з контролем ($80 \pm 7,3$ та $20 \pm 8,6$ відповідно; $p < 0,05$). Зростання рівня ТНФа може бути наслідком підвищення синтезу даного цитокіну клітинами жирової тканини, маса якої збільшується за умов ЦД. Зменшення вмісту ІФН γ можливо пов'язано з порушенням неспецифічної ланки імунітету та може бути причиною хронічних ускладнень, які мають місце за умов розвитку даної патології.

Отримані експериментальні дані вказують на залучення прозапальних цитокінів у патогенез ЦД, що може бути використано як додаткові критерії діагностики, прогнозування та моніторингу даного ендокринного захворювання.

Гаркуша І., Ворошилова Н.

**ВПЛИВ КИСЛОТНО-ЛУЖНОГО СТАНУ НА ФОСФОРНО-КАЛЬЦІЄВИЙ
ОБМІН В ОРГАНІЗМІ ОТРУЄНИХ ЩУРІВ**

Національний університет біоресурсів і природокористування України

03041, м. Київ, вул. Потехіна, 16

В останні роки зростає екологічне навантаження на організм тварин і людини, що зумовлено забрудненням навколишнього середовища ксенобіотиками, зокрема важкими металами. Кадмій є унікальним серед важких металів за здатністю викликати токсичне ураження в більшості органів. Він потрапляє в організм із водою, повітрям, продуктами харчування та кормами, акумулюється в окремих органах, тим самим ініціює порушення перебігу багатьох біохімічних реакцій, мітохондріальну дисфункцію та зміни балансу макро- і мікроелементів (Мельникова Н.М., 2007). Відомо, що отруєння кадмієм найчастіше характеризується ураженням ниркових каналців та остеомаліцією, а також розвиток гіповітамінозу D. При виникненні цих патологічних процесів певну роль відіграють конкурентні взаємовідносини кадмію з деякими мінеральними елементами. Про наявність таких взаємовідносин свідчать дані про посилення кальцієм екскреції кадмію із організму та про затримку його в умовах кальцієвого дефіциту (Коломієць В.В., 1998). З іншого боку, при інтоксикації кадмієм серед різнома-

нітних метаболічних змін спостерігається і порушення фосфорно-кальцієвого обміну. На думку інших авторів, кадмій безпосередньо впливає на остеопорозні зміни в кістках, пригнічуючи синтез вітаміну D в печінці (Москалев Ю.И., 1985). Враховуючи, що практично всі процеси метаболізму проходять із витратами енергії, фосфор є постійним і необхідним компонентом макроергів, підтримує структурну цілісність клітин, регулює активність більшості ферментів і, з'єднуючись із кальцієм, бере участь у зсіданні крові.

Відомо, що кислотно-лужний стан та мінеральний обмін в організмі є дуже чутливими до різних патологічних впливів. Не з'ясовано вплив кадмієвої інтоксикації на фосфорно-кальцієвий обмін отруєних щурів, способи її корекції шляхом зміни параметрів кислотно-лужного стану організму.

Тому метою роботи було дослідження впливу кислотно-лужного стану на вміст фосфору та кальцію в крові щурів, отруєних кадмію сульфатом. Дослід проводився за наступною схемою: I група - інтактні щури; II група - щури, отруєні кадмію сульфатом; III та IV групи - щури, отруєні кадмію сульфатом і введені у стан експериментального метаболічного ацидозу й алкалозу відповідно. Вміст фосфору та кальцію досліджували в плазмі крові на біохімічному аналізаторі "Microlab 200" (Нідерланди).

Результатами досліджень встановлено вірогідне збільшення вмісту кальцію в крові отруєних щурів на 34,7 % та зниження вмісту фосфору на 30,4 %, порівняно з їхнім вмістом в інтактних тварин. Відомо, що при зниженні вмісту фосфору вміст кальцію може зростати та навпаки (Коломієць В.В., 1998). Зміни вмісту фосфору та кальцію в крові отруєних щурів, на нашу думку, можна пояснити тим, що токсичний вплив кадмію сприяє зниженню ниркової фосфатної реабсорбції та зменшенню кишкової абсорбції фосфатів і кальцію. За умов введення отруєних щурів у стан метаболічного ацидозу вміст кальцію вірогідно знижується на 27 %, а фосфору має тенденцію до збільшення; натомість за умов введення отруєних щурів у стан метаболічного алкалозу – вірогідних змін вмісту фосфору та кальцію не встановлено.

Отже, експериментальна модель зміни параметрів кислотно-лужного стану організму можна використовувати як метод корекції фосфорно-кальцієвого обміну в крові щурів, отруєних кадмію сульфатом.

Гомза Б., Стрижак В., Семчишин Г.

ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ МЕТОДОМ ОКИСНЕННЯ КВЕРЦЕТИНУ

Прикарпатський національний університет ім. Василя Стефаника

вул. Шевченка, 57, м. Івано-Франківськ, 76025, Україна

E-mail: semchyshyn@pu.if.ua

В наш час все більшого практичного значення набувають дослідження змін у системі антиоксидантного захисту, як однієї із першочергових причин ініціації вільнорадикального окислення. Основними компонентами антиоксидантної системи є ферменти антиоксидантного захисту, серед яких особливе місце посідає супероксиддисмутаза (СОД). Метою даної роботи було підібрати оптимальні умови для визначення активності СОД, яке ґрунтується на окисненні кверцетину супероксид-аніоном. В дослідженнях використовували штам *Saccharomyces cerevisiae* YPH250 (дикий тип, MATa tpri-Δ1, his3-D200, lys2-Δ1, ade2-101, ura3-52 leu2-Δ1). Проаналізовано вплив різних концентрацій N,N,N',N'-тетраметилетилендіаміну (ТЕМЕДу) та кверцетину на швидкість реакції окислення останнього у таких буферних розчинах як 30 мМ трис-амінооксиметан (pH 7,0; 8,0 та 9,0), 50 мМ Na₂B₄O₇ (pH 10,5 та 11,0), а також 10, 20, 30 і 50 мМ гліцин (pH 10 та 10,5). Показано, що швидкість реакції окислення кверцетину є оптимальною за наступних умов (вказані кінцеві концентрації компонентів реакційної суміші): 1) 30 мМ гліциновий буфер (pH 10,5); 2) 0,3 мМ етилендіамінтетраацетат; 3) 0,8 мМ ТЕМЕД; 4) 1,6 мМ кверцетин; 5) час реєстрації змін оптичного поглинання кверцетину 3-5 хвилин.

Гордієнко Ю.^{1,2}, Ніколасенко Т.², Грунтковська О.¹, Шевцова А.¹

ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ММП–2 ТА –9 (АБО ЖЕЛАТИНАЗ А ТА В) ПРИ ПОРУШЕННЯХ В СИСТЕМІ ГЕМОСТАЗУ

¹Дніпропетровська державна медична академія

²КЗ «Міська багатoproфільна клінічна лікарня №4», м. Дніпропетровськ

E-mail: gordienko.ju@gmail.com

Матриксні металопротеїнази ММП–2 та ММП–9 синтезуються в багатьох клітинах крові: еозинофілах, нейтрофілах, В-лімфоцитах, тромбоцитах та ін. Вони мають різну локалізацію та функціональну активність. В останні часи в літературі широко дискутується регуляторна дія цих ферментів та їх участь у патогенезі захворювань, особливо у розвитку атеросклерозу та його ускладнень. Більшість дослідів обмежується визначенням кількості або активності ММП–2 та ММП–9 без урахування їх рівня в окремих клітинах крові. Між тим, визначення активності желатиназ в окремих клітинних фракціях крові може надати додаткову інформацію про їх походження і механізми розвитку патологічного процесу.

Метою наших досліджень було порівняння рівня ММП–2 та ММП–9 у плазмі крові, тромбоцитарній та лімфоцитарній масі крові у пацієнтів з порушеннями гемостазу.

Методи. Для дослідження використовували цитратну плазму крові, розчинну фракцію лімфоцитарних та тромбоцитарних мас, що були одержані у 21 пацієнта з гіперкоагуляцією та тромбоцитозом. Стан системи гемостазу оцінювали за кількістю, станом адгезії та агрегації тромбоцитів, активованому частковому тромбoplastиновому часу (АЧТЧ), кількості фібриногену та фактора XIII. Визначення активності ММП–9 та ММП–2 у плазмі крові проводили за допомогою методу желатин-зимографії. Протеолітичну активність оцінювали за розміром безбарвних смуг на синьо-блакитному фоні. Ідентифікацію зон, що відповідають ММП–2 та –9 проводили за допомогою забарвлених маркерів (BioRad) та за допомогою позитивного контролю на ці ферменти (Sigma).

Результати. Спостерігались зміни активності желатиназ у плазмі крові пацієнтів з порушенням гемостазу, причому напрям змін залежав від типу порушень. Показано, що активність ММП–2 та ММП–9 зростає при підвищенні активності в тромбоцитарній та коагуляційній ланках гемостазу та пов'язана з гіперкоагуляцією та тромбоцитозом. Встановлено, що ММП–2 відіграє важливу роль при агрегуванні тромбоцитів, оскільки її вивільнення корелює з масштабом агрегації.

Знайдені закономірності у зміні активності желатиназ А та В можна покласти в основу розробки методичних підходів до діагностики порушень в системі гемостазу, прогнозування подальшого перебігу хвороби та її ускладнень.

Данилюк О., Попадинець Г., Семчишин Г.

ГЛЮКОЗА ТА ФРУКТОЗА МАЮТЬ РІЗНИЙ ВПЛИВ НА РІСТ ДРІЖДЖІВ *S. CEREVISIAE*

Прикарпатський національний університет ім. Василя Стефаника

вул. Шевченка, 57, м. Івано-Франківськ, 76025, Україна

E-mail: semchyshyn@pu.if.ua

Подібно до глюкози фруктоза є багатим на енергію субстратом. Проте особливості будови молекули фруктози забезпечують її вищу хімічну реакційну здатність. Актуальним є питання доцільності широкого використання фруктози як замітника глюкози людям хворим на гіперглікемію та цукровий діабет. Важливими показниками життєздатності клітини є її репродукційна здатність та метаболічна активність. Метою роботи було дослідити вплив глюкози та фруктози на ріст пекарських дріжджів та метаболічну компетентність їхніх клітин.

В дослідженнях використовували штам *Saccharomyces cerevisiae* YPH250 (дикий тип, *MATa trp1-Δ1, his3-D200, lys2-Δ1, ade2-101, ura3-52 leu2-Δ1*). Дріжджі вирощували за умов аерації при 28°C у середовищі, яке містило 0,5%, 2% і 4% глюкозу або фруктозу, 2% ферментати-

вний пептон та 1% дріжджовий екстракт. Для досліджень дріжджі відбирали на 14 год, 1-шу, 3-тю та 5-ту доби культивування. Для оцінки репродуктивної здатності клітин використовували загальноприйнятий підхід визначення кількості колоній-утворюючих одиниць. Кількість мертвих клітин визначали за допомогою барвника метиленового синього. Респіраторну компетентність визначали за допомогою барвника 2,3,5-трифенілтетразолію хлориду (ТТС).

Показано, що незалежно від концентрації вуглеводів швидкість зниження репродуктивної здатності була вищою у дріжджів, які росли на фруктозі, порівняно з клітинами, які культивували на глюкозі. Швидкість загибелі клітин практично не залежала від джерела вуглеводів. Проте збільшення концентрації вуглеводів мало негативний вплив на життєздатність дріжджів. Так, кількість мертвих клітин була вищою у середовищах з концентрацією вуглеводів 2% та 4%, порівняно з 0,5%. Метаболічна активність дріжджів, які росли на 2% фруктозі протягом 3-х діб, була вищою, ніж клітин, які культивували на 2% глюкозі. Активність знижувалась за умов стресу, індукованого перексидом водню, зі збільшенням як концентрації H_2O_2 , так і часу його дії. Проте й за умов окисдативного стресу метаболічна активність клітин, вирощених на фруктозі залишалась вищою, порівняно з дріжджами, вирощеними на глюкозі.

Таким чином, протягом росту пекарських дріжджів на фруктозі їхня здатність до утворення колоній була нижчою, ніж у клітин, які росли на глюкозі. Результати свідчать, що дріжджі, вирощені на фруктозі, мають вищу метаболічну активність, ніж клітини, вирощені на глюкозі в нормі та за умов окисдативного стресу.

Дзюбчик М., Клевета Г.

**АКТИВНІСТЬ ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТДЕГІДРОГЕНАЗИ ТА ВМІСТ ОКРЕМИХ
МЕТАБОЛІТІВ У ЛІМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ДІЇ
НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул.Грушевського 4, м.Львів, 79005*

Аналіз літературних даних вказує на те, що більшість ефектів іонізуючої радіації не прямо індуковані опроміненням, а опосередковано, через систему регуляції внаслідок посилення окиснювального катаболізму складних органічних структур, через зміну імунного та антиоксидантного статусу.

На малі дози іонізуючого випромінювання організм реагує розвитком окисдативного стресу, що супроводжується генерацією активних форм кисню (АФК) та активацією процесів перексидного окиснення ліпідів (ПОЛ). Залежно від концентрації, АФК виявляють регуляторний або цитотоксичний ефект.

Метою роботи було: з'ясувати роль окремих ензимів енергетичного обміну та глутатіонової системи у попередженні радіоіндукованих окислювальних процесів.

Дослідження проводили на білих безпородних щурах-самках з масою тіла 150-230 г, яких утримували в стандартних умовах віварію. Дослідних тварин розподіляли на групи:

перша – інтактні тварини (контроль);

друга – тварини, яких впродовж 30-ти діб опромінювали у дозі 1 сГр на апараті РУМ-17

Встановлено, що хронічне рентгенівське опромінення у щодобовій дозі 1 сГр призводить до зниження активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази у лімфоцитах периферичної крові. Найбільшою мірою активність ензиму знижується за дози 20 сГр (на 38,95 % щодо контролю). У пострадіаційний період активність ензиму підвищується щодо показників у опромінених щурів, проте, залишається нижчою за контрольні значення.

Показано, що вірогідне зниження активності глутатіонредуктази на фоні зниження активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази у лімфоцитах щурів впродовж опромінення та у пострадіаційний період. Максимальне зниження активності показано за дози 30 сГр (на 45% відносно контролю).

Відмічено підвищення вмісту ТБК-позитивних продуктів у фракціонованих клітинах кісткового мозку, лімфоцитах та цільній крові щурів при опроміненні у дозах 10 - 30 сГр. Найбільш виражена активація процесів ПОЛ встановлена у кістковому мозку, що вказує на його високу радіочутливість.

З допомогою однофакторного дисперсійного аналізу встановлено, що домінуючою є частка впливу опромінення на вміст ТБК-позитивних продуктів у клітинах кісткового мозку та у цільній крові щурів за дози 20 - 30 сГр, а у лімфоцитах – 10 сГр, що узгоджується з максімальним вмістом досліджуваних метаболітів на зазначені терміни експерименту.

Дідух Ю., Мельникова Н.

МІКРОЕЛЕМЕНТНИЙ СКЛАД КРОВІ ЩУРІВ В ОНТОГЕНЕЗІ

*Національний університет біоресурсів і природокористування України
03041, м.Київ, вул.Потехіна,16*

Важливе місце у вивченні проблеми старіння займає питання адаптації організму до дії негативних факторів зовнішнього середовища та встановлення гомеостатичного контролю вмісту макро- і мікроелементів, так необхідних для повноцінного функціонування органів і систем на різних етапах розвитку організму.

Відомо, що в процесі онтогенезу певні органи і тканини здатні вибірково концентрувати в своєму складі ті чи інші мікроелементи. Залежно від віку змінюється і вміст мікроелементів в крові. Так, наприклад, вміст купруму в крові особин віком 50-60 років міститься менше, а цинку більше, ніж у віці 20-25 років. Вміст феруму та купруму в крові досягає рівня дорослих тільки до 10-15-річного віку. Відзначено, що цинк з віком має тенденцію до підвищення вмісту в тканинах, а ферум і купрум – до зниження (Трахтенберг І.М., 2005).

Особливого значення серед мікроелементів набувають купрум, цинк та ферум, оскільки вважаються есенційними (життєвонеобхідними), оскільки координують роботу більшості ферментів обміну речовин, беруть участь в гемопоезі, окисно-відновних процесах (Мельникова Н.М., 2008).

Тому в контексті викладеного метою нашої роботи було дослідження вмісту есенційних мікроелементів в крові щурів 3-, 6- та 18-місячного віку.

Дослід проводився на базі кафедри біохімії тварин, якості і безпеки сільськогосподарської продукції ім. акад. М.Ф. Гулого. Дослідження проведені на безпородних щурах різного віку: молоді (3 місяці), статевозрілі (6 місяців), старі (18 місяців). Вміст купруму, цинку та феруму в крові визначали на атомно-абсорбційному спектрофотометрі ААС - 30 (Німеччина).

Результатами проведених досліджень встановлено збільшення вмісту купруму в крові щурів 6-місячного віку на 34,4 %, порівняно з його вмістом в крові щурів 3-місячного віку, натомість в крові щурів 18-місячного віку він залишається без вірогідних змін. Вміст цинку в крові щурів 6-місячного віку зростає на 16 %, порівняно з його вмістом в крові щурів 18-місячного віку відповідно. Вміст феруму в крові щурів 6-місячного віку має тенденцію до збільшення, порівняно з його вмістом в крові щурів 3-місячного віку, натомість в крові щурів 18-місячного віку вірогідно знижується на 20 % відповідно.

Таким чином, виявлені зміни вмісту купруму, цинку та феруму пов'язані, з одного боку, з необхідністю їх використання організмом у різні вікові періоди, з іншого – з взаємовідносинами між собою у метаболічних процесах в організмі.

Дударенко М., Юзефович Ю., Вишневська А., Руденко Я.

ЛІПІДНО-БІЛКОВИЙ СКЛАД

ПЛАЗМИ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ СТРЕСОВОЇ МОДЕЛІ ВИРАЗКИ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Виразкова хвороба (пептична виразка) – це захворювання, яке характеризується виникненням виразкового дефекту в слизовій оболонці шлунка і/або дванадцятипалої кишки, в основі якого лежить запальний процес, зумовлений зниженням її захисних властивостей і/або

підвищенням агресивності шлункового вмісту у зв'язку з персистенцією гелікобактерної інфекції, а також впливом багатьох інших внутрішніх і зовнішніх факторів (Свінцицький, Соловйова, 2006).

Останнім часом найбільш поширеним є погляд на виразкову хворобу як на мультифакторне захворювання (Сокольник, 2004), але й досі не з'ясовано усіх причинно-наслідкових механізмів виразкоутворення, тому це питання на сьогодні залишається актуальним.

Метою наших досліджень було визначити ліпідний та білковий склад плазми крові щурів при стресовій моделі виразки шлунка.

Для отримання нейродистрофічних уражень шлунка у щурів використовували модель імобілізаційного стресу в модифікації С.Д.Гройсмана та Т.Г.Каревіної (1979).

За методом Кейса (Kates, 1986) був визначений вміст фосфоліпідів: фосфатидилхоліну, фосфатидилінозиту, фосфатидилетаноламіну та лізофосфатидилхоліну та методом тонкошарової хроматографії визначено вміст нейтральних ліпідів у плазмі крові щурів при експериментальній моделі стресової виразки. За результатами відзначаються зміни вмісту як фосфоліпідів, так і нейтральних ліпідів. Виявлене підвищення вмісту нейтральних ліпідів та зміни вмісту фосфоліпідів у плазмі крові щурів, можливо, пов'язано з прискоренням метаболічних процесів, необхідністю репарації мембран та активацією перекисного окиснення ліпідів ПОЛ (Волчгорський та співавт., 1989; Коломоєць та співав., 1998; Kwiescien et al., 2002). Активація процесів ПОЛ супроводжуються тканинною гіпоксією внаслідок зниження місцевого кровотоку й мікроциркуляції (Поташов та співав., 1996).

При дослідженні загального білкового складу методом диск-електрофорезу у плазмі крові за умов стресової виразки виявляється група білків з молекулярною масою 23 кДа. Цілком можливо, що ця група білків є преальбумінами, під час стресу їх вміст зростає, оскільки вони транспортують тироксин і ретинол, перший з них регулює метаболізм організму і під час стресу активно синтезується, другий – бере участь у рості, диференціації клітин, забезпечує нормальне функціонування епітелію, тому його вміст підвищується, оскільки за умов виразки утворення ушкоджується слизова оболонка (Дворщенко, 2007).

Показники білково-ліпідного обміну плазми крові є важливими характеристиками функціонального стану метаболічних систем організму, а визначення їх якісного та кількісного складу може бути використано як діагностичний маркер прогностичний показник при різних патологічних станах, у тому числі при виразковому захворюванні.

Ель-Та'Алу А., Жукова Т., Кот Ю., Пономаренко О., Фальченко К.
ВПЛИВ МЕХАНІЧНОГО НАПРУЖЕННЯ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ ПРОЦЕСИНГУ
КОЛАГЕНУ ТИПУ І ТА СТРУКТУРНУ СТАБІЛЬНІСТЬ ЙОГО
НАДМОЛЕКУЛЯРНИХ УТВОРЕНЬ

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

61077 Харків, пл. Свободи 4

E-mail: kate.falchenko@inbox.ru

В роботі досліджено *in vitro* вплив розтягуючого механічного напруження на інтенсивність гідроксилювання пролілу, окислювального дезамінування ϵ -аміногруп лізину та гідроксилізу в колагені І типу та формування його надмолекулярних утворень.

Експерименти було проведено на колагені І типу зі шкіри 3-місячних щурів лінії Вістар. Прямокутні зразки дерми шкіри розтягували впродовж продольної вісі в діапазоні напружень (0 - 0,24) МН/м² у інкубаційному розчині, що містив ³Н-пролін (³Н-Про). Інтенсивність синтезу колагену типу І оцінювали по питомій радіоактивності ³Н-гідроксипролілу (³Н-Гіпро) у свіжосинтезованому колагені, який екстрагували з тканини розчином 1М NaCl. Ступінь гідроксилювання пролілу розривали за методами () і () відповідно. аховували за відношенням [³Н-Гіпро/(³Н-Про+³Н-Гіпро)] після розподілу радіоактивних проліну та гідроксипроліну. Окислювальне дезамінування лізину та окисилізу оцінювали за вмістом віль-

них ϵ -NH₂ та альдегідних груп у колагені; Рівень ковалентного поперечного зв'язування колагену у зразках оцінювали за його розчинності в 1М NaCl. Штучні фібрили отримували шляхом їх самозбирання в розчинах колагену типу I і використовували для вимірювання термодинамічних показників денатурації на диференційному адиабатному скануючому мікрокалориметрі DASM-4. Утворення фібрил контролювали мікрофотографічно на поляризаційному мікроскопі МП-2. Для калориметричних досліджень брали зразки колагену відразу ж після його екстракції з тканини та на 10 добу його фібрилоутворення.

Показано, що з ростом напруження в колагені кількість вільних ϵ -NH₂-груп лізили та гідроксилізили у колагені збільшується, а кількість вільних альдегідних груп, які утворюються з ϵ -NH₂-груп, як і ступінь гідроксилювання пролілу, знижується. Вільні альдегідні групи є проміжним продуктом утворення поперечних ковалентних зв'язків. Виявлене зменшення кількості цих груп в колагені під дією механічного напруження призводить до зниження ступеня його поперечного ковалентного зв'язування, що проявляється у збільшенні його розчинності. Калориметричні вимірювання параметрів денатурації свіжосинтезованих молекул колагену виявили одноступеневий характер денатурації молекул синтезованих без та під дією механічного напруження, причому ентальпія денатурації останніх, а отже і їх структурна стабільність, значно нижча, ніж при відсутності напруги. Це є наслідком виявленого зменшення ступеня гідроксилювання пролілу. Денатурація фібрил колагену, що синтезувався під механічним напруженням в тканині, має двохпіковий характер. Перший пік відповідає теплопоглинанню індивідуальних молекул колагену та суміші агрегатів, що не мають міжмолекулярних зшивок, або мають їх незначну кількість, наявність яких не вносить суттєвого внеску в структурну енергію утворених агрегатів. Другий пік являє собою теплопоглинання фібрил з великою кількістю міжмолекулярних зшивок, утворених в результаті альдольної конденсації та утворення шифрових основ. Однак значно менша величина енергії ентальпії денатурації фібрил, утворених з колагену, синтезованого при напруженні в шкірі, свідчать про те, що вони мають меншу кількість таких зшивок у порівнянні з колагеном, синтезованим при відсутності напруження. За даними мікрофотометрії фібрили колагену, синтезованого за відсутністю механічного напруження в шкірі мають більшу довжину і менший діаметр, ніж фібрили колагену, синтезованого в шкірі за умови її напруження.

Таким чином, виявлене зменшення ступеня окислювального дезамінування ϵ -аміногруп лізили та гідроксилізили в колагені I типу, який синтезується під дією механічного напруження, призводить до порушення утворення протяжних колагенових структур і є причиною зниження термостабільності утворених з нього фібрил.

Срмішев О., Мельникова Н.

КИСЛОГО-ЛУЖНИЙ СТАН КРОВІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ОТРУЄННЯ ЦЕЗІЄМ

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: magystr_dep@twin.nauu.kiev.ua

Середовище, у якому ми живемо, в тому числі повітря, вода, їжа, містять велику кількість металів. Природно, що всі вони у різних концентраціях потрапляють в наш організм. У зв'язку з цим існує ризик отруєнь, у тому числі і масових, які спричинені цими токсичними речовинами, різними за хімічною будовою і фізико-хімічними властивостями. В умовах збільшення техногенного забруднення довкілля одним із пріоритетних напрямків у токсикології залишається вивчення особливостей та механізмів дії найбільш поширених важких металів – факторів ризику багатьох екологічно залежних захворювань. У зв'язку з активною виробничою діяльністю людини в навколишнє середовище потрапляє велика кількість важкого металу цезію. Цей елемент зустрічається в природі у вигляді ряду ізотопів, в тому числі і радіоактивних. [Власик Л.І., 2000].

Відомо, що цілісний організм і кожна його клітина потребують чітко визначеного підтримання кислотно-лужного стану. В процесі еволюції в організмі розвивалися та закріплювалися потужні механізми компенсації порушень його нормального стану як на рівні окремих органів, так і на молекулярному. Молекулярні механізми базуються перш за все на співвідношенні інтенсивності процесів синтезу та розпаду білків, нуклеїнових кислот, вуглеводів, ліпідів [Мельничук Д.О., 1998]. Більшість важких металів, згідно попередніх досліджень, змінюють кислотно-лужний стан крові організму. Тому метою нашої роботи стало дослідження кислотно-лужного стану крові організму шурів за умов цезієвого отруєння.

Дослідження проводились на самцях білих лабораторних шурів, вагою 180 – 200 г, віком 4 місяці. Тваринам вводили водний розчин цезію хлориду внутрішньочеревинно протягом 14 діб в концентрації 0,01г/100г живої ваги. Визначення показників кислотно-лужного стану крові проводили на газоаналізаторі крові "Radelkis".

Порівняння кислотно-лужного стану крові інтактних і отруєних цезію хлоридом шурів свідчить про те, що у отруєних тварин рН крові зміщується в кислу зону з 7,34 до 7,22. Спостерігається зниження рівня насиченості вуглекислотою у 1,3 рази і киснем у 1,55 рази, що вказує на розвиток гіпоксії у тканинах отруєних шурів та, можливо, є наслідком негативного впливу важкого металу на перебіг окисно-відновних реакцій в організмі. Згідно отриманих нами даних знижується рівень бікарбонатів у 1,34 рази та загальної вуглекислоти у 1,5 рази. Показник зміщення буферних основ знижується в 1,7 рази. Результати досліджень вказують на те, що отруєні цезію хлоридом шури перебувають у стані субкомпенсованого метаболічного ацидозу для якого характерним є зниження рівня рН, pCO_2 , бікарбонатів, загального CO_2 , та рівня зміщення буферних основ.

Метаболічний ацидоз виникає внаслідок збільшення в крові органічних кислот, причиною чого є порушення проміжного обміну. Цей процес пов'язаний з первинним порушенням обміну речовин, що може виникнути під впливом важкого металу. Цим пояснюється посилення окисно-відновних процесів у тканинах отруєних шурів під дією іонів цезію. Така спрямованість обмінних процесів при ацидозі проявляється, як правило, перевагою процесів глюконеогенезу, що супроводжується зв'язуванням іонів водню при утворенні нейтральної сполуки – глюкози, посиленням пероксидації ліпідів в умовах окисленого середовища. Нестача відновлених метаболітів збільшує проникність мембран для іонів кальцію, що призводить до прискорення утворення органічних кислот [Мельничук Д.О., 1998]. Окрім посиленого утворення органічних кислот, причиною метаболічного ацидозу може бути також недостатнє виділення або нейтралізація цих метаболітів внаслідок порушення роботи нирок або кишечника.

Отже, надлишок в організмі тварин важкого металу цезію спричиняє виникнення стану субкомпенсованого метаболічного ацидозу.

Заліпухін О., Мельникова Н., Кліх Л.

КОРЕКЦІЯ СТРОНЦІЄВОГО ОТРУЄННЯ АНТИОКСИДАНТАМИ

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: magystr_dep@twin.nauu.kiev.ua

Важкі метали, що відносяться до пріоритетних забруднювачів навколишнього середовища, здійснюють виражений негативний вплив на організм, змінюючи його імунологічну реактивність, знижуючи стійкість до інфекційних захворювань та підвищуючи ризик виникнення алергічних, онкологічних і ряду інших патологій. Крім того, вони володіють ембріотоксичною дією, пригнічують неспецифічну резистентність організму, показники клітинного і гуморального імунітету. Серед важких металів особливе місце займає стронцій, що пояснюється не лише його високою небезпечністю для організму, але й тим, що в багатьох регіонах України, в тому числі і в столиці, він є одним з основних забруднювачів, що визначає екологічну ситуацію [Трахтенберг І.М., 2004].

З метою корекції патологічних процесів, що виникають за умов токсичного ураження важкими металами, використовують цілий ряд методів та засобів залежно від стадії процесу та тяжкості перебігу хвороби. Перспективним і сучасним методом корекції таких отруєнь є використання антиоксидантів [Горн М.М., 2000]. Погіршення екологічної ситуації не лише в Україні, а і у світі, надзвичайний токсичний ефект важких металів та відсутність ефективних методів корекції викликані ними інтоксикації зумовлює актуальність проведення подальших експериментальних досліджень і потребує більш глибокого вивчення даної проблеми.

Метою даної роботи було вивчення впливу солей стронцію на вміст глюкози в крові кролів та корекція виявлених порушень антиоксидантами.

Для досліджень були використані молоді самці кролів, породи «Радянська шиншила». Дослідження виконані на чотирьох групах тварин, у кожному з яких було відібрано по 5 кролів: перша група – контрольна (інтактні кролі), друга – тварини, протягом 14 діб отруєні рег ос

стронцію хлоридом в дозі $\frac{1}{30} \text{ ЛД}_{50}$, третя – тварини, протягом 14 діб отруєні рег ос

стронцію хлоридом в дозі $\frac{1}{30} \text{ ЛД}_{50}$, яким паралельно вводили вітамін Е в дозі 0,5 мл/100

г, четверта – тварини, протягом 14 діб отруєні рег ос стронцію хлоридом в дозі $\frac{1}{30} \text{ ЛД}_{50}$, яким паралельно вводили натрію селеніт в дозі 0,2 мл/100 г. Вміст глюкози визначали в сироватці крові з використанням приладу «Мікролаб» 200 (Нідерланди). Результати оброблені статистично.

У результаті проведених досліджень встановлено, що у крові кролів, отруєних стронцієм концентрація глюкози вища, ніж у інтактних тварин відповідно на 23 %. Підвищення концентрації глюкози в крові отруєних тварин може вказувати на інтенсифікацію процесів глюконеогенезу, що узгоджується з літературними даними [Д.О. Мельничук, 1986]. У той же час, зростання концентрації глюкози за умов отруєння організму важкими металами, можна також пояснити зниженням інтенсивності реакцій гліколізу, тобто спроможності організму використання її в метаболічних процесах.

Після введення в якості антиоксидантів вітаміну Е та селеніту натрію вміст глюкози знизився у порівнянні з отруєними кролями на 13 % та 15 % відповідно. Отже, антиоксиданти знижують вміст глюкози в крові отруєних кролів і, очевидно, можуть використовуватись для нормалізації фізіологічного стану організму при стронцієвому отруєнні.

Після подальших досліджень одержані дані можуть бути рекомендовані для впровадження профілактичного застосування вітаміну Е та натрію селеніту з метою послаблення токсичної дії стронцію на територіях з високим рівнем забруднення важкими металами.

Кангіна Т., Данилюк О., Семчишин Г.

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВІДПОВІДІ ПЕКАРСЬКИХ ДРІЖДЖІВ НА ДІЮ ОЦТОВОЇ ТА ПРОПІОНОВОЇ КИСЛОТ

Прикарпатський національний університет ім. Василя Стефаника

вул. Шевченка, 57, м. Івано-Франківськ, 76000, Україна

E-mail: semchyshyn@pu.if.ua

Оцтова і пропіонова кислоти широко застосовуються як консерванти. Харчові консерванти перешкоджають розвитку мікроорганізмів, які псують їжу. Однією з причин загибелі мікроорганізмів за дії оцтової кислоти, є її здатність за аеробних умов стимулювати до утворення активованих форм кисню (АФК). Механізми дії пропіонової кислоти вивчені недостатньо. Відповідь клітини на дію слабких органічних кислот залежить від індукції захисних білків. Регуляторний білок War1 контролює синтез транспортного білка Pdr12, який, у свою чергу, є відповідальним за виведення аніонів слабких органічних кислот (СОК) з клітини.

Пероксид водню за низьких концентрацій регулює багато різноманітних клітинних процесів. Інкубація мікроорганізмів з сублетальними концентраціями перексиду водню призводить до появи резистентності клітин до летальних доз оксидантів. Ймовірно, АФК в невеликих кількостях можуть слугувати сигнальними молекулами для попередження загибелі клітини внаслідок дії СОК. Метою роботи було порівняти відповідь дріжджів на дію оцтової та пропіонової кислот, а також вивчити вплив низьких концентрацій H_2O_2 на виживання дріжджів за дії слабких органічних кислот. У дослідженнях використовували штами *Saccharomyces cerevisiae*: W303-1A – дикий тип (*MATa ura3-1 leu2-3,112 his3-11,15 trp1-1 ade2-1 can1-100*) та його ізогенні похідні YBB14 (W303-1A *ptr12Δ::hisG-URA3-hisG*) і YAK120 (W303-1A *war1Δ::HIS3*). Обробку клітин оцтовою і пропіоновою кислотами здійснювали протягом 120 хв в середовищі з рН 3,0 для забезпечення максимального проходження їхніх молекул в цитозоль дріжджових клітин. Перед обробкою ацетатом клітини дріжджів піддавали дії перексиду водню наступних концентрацій: 0,05 мМ, 0,1 мМ і 0,25 мМ протягом 30 хв. Для оцінки життєздатності клітин був використаний загальноприйнятий підхід оцінки кількості колоній-утворюючих одиниць. В результаті досліджень було показано, що виживання клітин досліджуваних штамів знижувалося під дією 200 мМ оцтової і пропіонової кислот. Штами, дефектні за білками War1 і Ptr12, були значно чутливіші до дії кислот порівняно з дикими штамми. Під дією ацетату в концентрації 50-200 мМ зростала активність каталази і супероксиддисмутази (СОД), що свідчить про важливість цих ферментів в адаптації дріжджів до кислотного стресу. Дія 10-100 мМ пропіонової кислоти не викликала достовірних змін у активності СОД і каталази обох диких штамів. Можна припустити, що супероксиддисмутаза і каталаза не відіграють істотної ролі у адаптації клітин до дії пропіонової кислоти. Це може свідчити про різні механізми дії пропіонової і оцтової кислот. Попередня обробка суспензії дріжджів перексидом водню у концентрації 0,1-0,25 мМ в 1,2-1,3 рази підвищувала виживання дикого штаму і в 4,6-6,6 рази – штаму YAK120. Можна припустити, що в адаптації дріжджів до оцтової кислоти задіяні механізми, пов'язані з участю антиоксидантної системи.

Марченко М., Пасайлюк М., Катан Н.

**АКТИВНІСТЬ ЦИТОХРОМУ Р-450 В МІКРОСОМНІЙ ФРАКЦІЇ ПЕЧІНКИ
ЩУРІВ-ПУХЛИНОНОСІЇВ НА РІЗНИХ ЕТАПАХ ОНКОГЕНЕЗУ
В УМОВАХ ДЕФІЦИТУ ВІТАМІНУ А**

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича

E-mail: masha_fok@mail.ru

Резистентність організму до появи пухлин, їх ремісії, в певній мірі визначається ефективністю роботи клітинної системи детоксикації. Головним детоксикаційним органом є печінка, де локалізована основна маса ферментів системи. З точки зору каталітичної активності провідне місце в I фазі детоксикації займає система цитохром Р-450, яка локалізується в ендоплазматичному ретикулумі (Peter G., 2005). Ізоферменти цитохрому Р-450 каталізують різноманітні типи реакцій, в тому числі перетворення ретиналю в ретиноеву кислоту (РК), яка проявляє вищу біологічну активність ніж вихідні сполуки, а також РК до гідрокси та оксипохідних РК, які є неактивними дериватами (Chen H. та ін., 2000). Нестача вітаміну А в організмі та вплив пухлинного росту, очевидно, змінить функціонування Р-450, та метаболізм власне ретиналю. Тому нами проведені дослідження по визначенні ефективності роботи цитохрому Р-450, як одного із компонентів детоксикаційної системи, в печінці при різній забезпеченості організму вітаміном А на різних етапах онкогенезу карциноми Герена.

Результати досліджень дозволили встановити, що у тварин, які утримувалися на дієті, позбавленій вітаміну А, вміст цитохрому Р-450 у печінці знижувався впродовж усього часу розвитку дефіциту ретиналю в організмі і складав 60% від показників контрольних тварин в умовах маргінального А-дефіцитного стану. Імовірно, зниження загального вмісту СYP пов'язане із встанов-

леним зниженням вмісту мРНК для більшості ізоформ цитохрому Р-450 за цих умов (Martini R. та ін., 1995), та зниженням синтезу мікросомальних білків внаслідок ушкодження мембран ендоплазматичного ретикулуму (ЕПР) в умовах дефіциту вітаміну А (Hauswirth J. та ін., 1976).

За умов маргінального А-дефіциту була майже вдвічі знижена п-гідроксилазна активність цитохрому Р-450 печінки. Такі показники, імовірно, є наслідком високої інактивації цитохрому Р-450 та його переходу в неактивну Р-420 форму за умов середнього дефіциту вітаміну А та ризикованого гіповітамінозу. Можливо, що зниження активності Р-450 є також наслідком структурних порушень ЕПР в умовах А-дефіцитного стану (Hauswirth J., 1976), оскільки цей фермент вбудований в його мембрану (Wang J. та ін., 2002).

Трансплантація карциноми Герена щурам при появі перших ознак авітамінозу і утримання їх в подальшому на дієті, позбавленій вітаміну А, супроводжувалося підвищенням в печінці п-гідроксилазної активності Р-450 на 20% на 7-у та 10% на 14-у добу експерименту порівняно із показниками тварин, яким пухлину не трансплантували. Імовірно, активація п-гідроксилювання аніліну (на фоні незмінної кількості Р-450 та швидкості його переходу в Р-420 форму) за цих умов є компенсаторним явищем у відповідь на зміни в ліпідному бішарі мембран ЕПР печінки, що має місце при рості в організмі новоутворення (Borgese N. та ін., 2001). З іншого боку, незначне підвищення п-гідроксилювання аніліну може бути індуковане організмом у відповідь на інтенсивний лізис пухлинних клітин, елімінація яких має місце за умов А-дефіцитного стану (Ross C., 2003).

Кеца О., Марченко М.

**ВПЛИВ ЛІПОСОМНОЇ ФОРМИ 5-(5',6' БЕНЗКУМАРОЇЛ-3')-МЕТИЛАМІНОУРАЦИЛУ
НА ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНІ ПРОЦЕСИ В МІКРОСОМНІЙ ФРАКЦІЇ
КАРЦИНОМИ ГЕРЕНА ЩУРІВ**

*Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
58000, м. Чернівці, вул. Коцюбинського, 2
E-mail: ketsa80@mail.ru*

Більшість лікарських препаратів, які за своєю природою чужорідні тваринному організму, метаболізуються за участю монооксигеназної системи печінки та інших органів. В цих процесах вони є субстратами різних форм цитохрому Р-450. В результаті метаболізму деяких протипухлинних препаратів утворюються продукти реакцій, які можуть проявляти як антиоксидантні, так і прооксидантні властивості. З іншого боку, при введенні в організм ксенобіотиків система монооксигеназ набуває важливої властивості до індукції своїх структур, з наступним метаболізмом лікарських препаратів.

Базуючись на тому, що метаболізм похідних кумарину здійснюється деякими ізоформами цитохрому Р-450 родини 2 (СYP 2), метою роботи було дослідити вплив ліпосомної форми кумаринового похідного, з протипухлинною активністю – гідробромід 5-(5',6'-бензкумароїл-3')-метиламіноурацилу (БКУ), на генерацію супероксидного радикалу ($O_2^{\cdot -}$) цитохромом Р-450 в мікросомній фракції карциноми Герена.

В результаті експерименту встановлено, що у мікросомній фракції неоплазми під час її інтенсивного росту спостерігається підвищення у 3,2 рази гідроксилювання ДМА та у 3,3 рази гідроксилювання аніліну цитохромом Р-450. При цьому не суттєво підвищується генерація $O_2^{\cdot -}$, в результаті чого на низькому рівні залишається окиснення білкових SH-груп та швидкість переходу цитохрому Р-450 у Р-420 у мікросомній фракції карциноми Герена.

На подальших етапах експерименту, а, зокрема, в стаціонарну фазу онкогенезу застосування ЛБКУ призводить до генерації $O_2^{\cdot -}$ цитохромом Р-450 та до утворення великої кількості вторинних та первинних продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів. В результаті такої інтенсифікації ПОЛ інактивується детоксикуюча система ксенобіотиків пухлини, оскільки, знижується активність цитохрому Р-450 в мікросомній фракції, за рахунок окиснення сульфгідрильних груп активними формами кисню. Встановлена тенденція супроводжується переходом цитохрому Р-450 в його неактивну форму Р-420.

Механізм за яким розвивається пригнічення росту карциноми Герена за дії протипухлинного засобу БКУ в ліпосомній формі, можна уявити собі так. Введення БКУ активує цитохром Р-450. Вільні радикали (АФК або вільні форми субстратів монооксигеназних реакцій), які утворюються при роботі мікросомного електрон-транспортного ланцюга, ініціюють процеси ліпопероксидації в мікросомних мембранах. На подальших етапах онкогенезу темпи активації вільнорадикальних процесів перевищують можливості детоксикуючої системи пухлини, що призводить до пригнічення гідроксилазної активності цитохрому Р-450.

Отже, на фоні підвищеної гідроксилазної активності (зокрема анілін-гідроксилазної) цитохрому Р-450, за дії ЛБКУ, в мікросомній фракції карциноми Герена в період її інтенсивного росту різко підвищуються процеси ліпопероксидації. В стаціонарну фазу онкогенезу в пухлинній тканині на фоні високої ліпопероксидації знижується активність компонентів клітинної системи детоксикації за дії різних форм БКУ порівняно із попередньою фазою.

Клименко Ю., Пирог Т., Шевчук Т.

ОСОБЛИВОСТІ ОКИСНЕННЯ ГЕКСАДЕКАНУ У *RHODOCOCCLUS ERYTHROPOLIS* ЕК-1 – ПРОДУЦЕНТА ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН

Національний університет харчових технологій, 01033, вул Володимирська, 68, Київ

E-mail: tapirog@usuft.kiev.ua

Штам *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1, ізолюваний нами із забруднених нафтою зразків ґрунту, є продуцентом поверхнево-активних речовин (ПАР). Відомо, що у послідовності метаболічних реакцій, пов'язаних з утворенням ключових інтермедіатів конструктивного метаболізму, може бути "вузьке місце" – реакція, швидкість якої нижча від інших або пов'язана з великою витратою енергії чи втратою вуглецю субстрату. Виявлення таких сайтів метаболічного лімітування, розробка підходів до їхнього усунення і визначення на основі цих знань принципів регуляції метаболізму дасть змогу реалізувати біотехнологічні процеси з найвищою ефективністю.

У зв'язку з цим мета даної роботи – дослідити особливості метаболізму алканів у *R. erythropolis* ЕК-1.

Встановлено, що окиснення гексадекану у штаму ЕК-1 здійснюється алкангідроксилазним комплексом, що містить залізосіркопротеїд рубредоксин. Підвищення концентрації іонів заліза у середовищі до 10 мг/л супроводжувалося збільшенням активності алкангідроксилази у 2 рази. За таких умов культивування спостерігали підвищення синтезу ПАР у 2,5 рази. Подальші дослідження показали, що катіони натрію є активатором, а катіони калію – інгібітором алкангідроксилази *R. erythropolis* ЕК-1. Так, алкангідроксилазна активність знижувалася у 3–6 рази за присутності 25–100 мМ K^+ , у той час як за наявності 50 мМ Na^+ активність ферменту підвищувалася у 1,5 рази. Заміна у середовищі культивування бактерій нітрату калію на еквімолярну за азотом концентрацію нітрату натрію супроводжувалася збільшенням показників синтезу ПАР у 2 рази.

Під час росту на гексадекані у клітинах *R. erythropolis* ЕК-1 виявлено чотири алкогольдегідрогенази – $НАД^+$ -, $НАДФ^+$ -, піролохінолінхінон(ПХХ)- і 4-нітрозо-*N,N*-диметиланілін (НДМА)-залежні ферменти. Активність $НАД^+$ - і $НАДФ^+$ -залежних алкогольдегідрогеназ була невисокою, і, очевидно, не має суттєвого значення для метаболізму гексадеканолю. Слід зазначити, що активність $НАД^+$ -залежного ферменту підвищувалася майже на порядок (до 100 нмоль·хв⁻¹·мг⁻¹ білка) за присутності 1 мМ $ZnSO_4$. Ці дані можуть свідчити про те, що $НАД^+$ -залежна алкогольдегідрогеназа *R. erythropolis* ЕК-1 належить до першої групи мікробних алкогольдегідрогеназ і являє собою довго ланцюговий (містить близько 350 амінокислотних залишків) цинк-залежний фермент.

Під час росту *R. erythropolis* ЕК-1 на гексадекані активність ПХХ-залежної алкогольдегідрогенази виявилася досить високою (до 100 нмоль·хв⁻¹·мг⁻¹ білка). На нашу думку це явище можна пояснити так. Враховуючи, що алкангідроксилаза є мембранзв'язаним ферментом, то ймовірнішим видається й окиснення алканолів мембранзв'язаними (як наприклад ПХХ-залежний фермент), а не розчинними алкогольдегідрогеназами.

Виявилось цікавим, що клітини *R. erythropolis* ЕК-1, вирощені на етанолі, проявляли НДМА-залежну дегідрогеназну активність по відношенню до гексадеканола і навпаки – у клітинах, вирощених на гексадекані, виявляли здатність НДМА-залежного фермента окиснювати етанол і гліцерин. Така широка субстратна специфічність алкогольдегідрогенази *R. erythropolis* ЕК-1 дає змогу розглядати і сам штам, і його ферментні системи як перспективні для використання у різних природоохоронних технологіях.

Одержані дані є основою для вдосконалення технології поверхнево-активних речовин *R. erythropolis* ЕК-1.

Кондратюк А.

ВИЗНАЧЕННЯ ФІБРИНОГЕНУ В ПЛАЗМІ КРОВІ ТУРБІДИМЕТРИЧНИМ МЕТОДОМ З ВИКОРИСТАННЯМ АНЦИСТРОНУ

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Київ

E-mail: biochimik@ukr.net

Визначення фібриногену в плазмі крові належить до найбільш поширених тестів, що застосовуються не лише для діагностування порушень гемостазу, але й для розпізнавання та визначення ступеня важкості запальних, імунних, деструктивних та неопластичних процесів.

Більшість запропонованих на сьогоднішній день методів визначення фібриногену засновано на полімеризації фібрину під дією тромбіну. Однак за умов гепаринотерапії застосування таких тестів викликає труднощі, оскільки в присутності гепарину відбувається інгібування тромбіну. Окрім того, при різних патологічних станах гемостазу може виникати накопичення та активація інших інгібіторів зсідання крові, природу яких важко визначити. В таких випадках для характеристики кінцевого етапу зсідання крові, утворення полімерного фібрину, рекомендовано використовувати тромбіноподібні ферменти, отримані зі зміїних отрут. Такі ферменти не інгібуються антитромбіном III в присутності гепарину, не активують фактор XIII зсідання крові та не викликають ретракцію згустків.

Раніше запропоновані тести визначення фібриногену з використанням тромбіноподібних ферментів базуються на фіксації часу утворення згустку. Нами показано, що на час формування згустку впливають продукти деградації фібрину, що можуть з'являтися в плазмі за різних патологічних станів, а також інші фактори невідомої природи.

Ми пропонуємо спосіб визначення фібриногену за величиною світорозсіювання згустку. Запропонований спосіб базується на турбідиметричному методі та використанні анцистрону-Н – тромбіноподібного ферменту з отрути щитомордника звичайного (*Agkistrodon halys halys*). Суть методу полягає у визначенні світорозсіювання згустку сформованого з фібриногену плазми під дією анцистрону-Н. Нами показано, що величина світорозсіювання прямопропорційна кількості фібриногену, залученого у згусток. Показали, що навіть надлишкові кількості як високомолекулярного, так і низькомолекулярного гепарину не впливають на результати тесту. Дослідили вплив продуктів деградації фібрину та визначили кількості, за яких починається гальмування процесів полімеризації. Одне визначення потребує 100 мкл плазми та 5-10 хв. часу. Запропонований спосіб визначення рівня фібриногену не потребує спеціального обладнання, окрім спектрофотометра з довжиною хвилі 350 нм та дороговартісних реактивів. Даний метод може бути рекомендований для використання в клінічній практиці для визначення вмісту фібриногену, контролю за ефективністю терапії та виявлення деградованих форм фібрину.

Корольова Д., Платонова Т.

РОЛЬ ПРОДУКТІВ РОЗЩЕПЛЕННЯ ПРОТРОМБІНУ В ФУНКЦІОНУВАННІ ТРОМБОЦИТАРНОГО ГЕМОСТАЗУ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

E-mail: d.korolova@gmail.com

Тромбін – центральний регуляторний фермент системи гемостазу, однією із основних функцій якого є активація тромбоцитів та індукція їх агрегації. На мембрані тромбоцитів є два типи рецепторів, що опосередковують тромбін-індуковану активацію тромбоцитів: ре-

цептори родини ПАР та глікопротеїн Ib (GPIb). Для активації тромбоцитів тромбіном через ПАР рецептори важливим є ферментативна активність тромбіну, в той час, як з GPIb може зв'язуватись ферментативно неактивний протромбін.

Тромбін циркулює в кровотоці у вигляді попередника – протромбіну. В процесі активації системи зсідання крові може утворюватись ряд продуктів розщеплення протромбіну. Основними продуктами розщеплення протромбіну є мезотромбін (проміжний продукт активації протромбіну) та претромбін 1 (утворюється в результаті розщеплення протромбіну тромбіном). На даний момент все більшу увагу дослідників привертає дослідження функціонального навантаження продуктів розщеплення протромбіну.

Метою нашої роботи було простежити роль мезотромбіну та претромбіну 1 в функціонуванні тромбоцитарної ланки гемостазу.

Методом протокової цитометрії нами було показано, що мезотромбін є слабким активатором тромбоцитів, порівняно з тромбіном, однак коли в популяції тромбоцитів в значній кількості (30-50%) є попередньо активовані тромбоцити, непроактивовані тромбоцити цієї популяції стають чутливими до впливу мезотромбіну. Претромбін не здатен активувати тромбоцити за цих умов. Слід зазначити, що в кровотоці мезотромбін та претромбін 1 з'являються внаслідок активації системи гемостазу, яка передбачає також активацію судинно-тромбоцитарної ланки. Тому в епіцентрі активації системи зсідання крові, тобто безпосередньо в місці пошкодження судини, вже на перших етапах активації протромбіну, мезотромбін може відігравати значну роль в активації тромбоцитарної ланки гемостазу.

На збагаченій тромбоцитами плазмі крові людини, нами було показано, що мезотромбін здатен викликати незначну, порівняно з тромбін-індукованою, концентраційно залежну агрегацію тромбоцитів. Претромбін 1 агрегацію тромбоцитів не викликає.

Поряд із цим, нами показано, що продукти розщеплення протромбіну ефективно модулюють колаген-, ADP- та адреналін-індуковану агрегацію тромбоцитів в збагаченій тромбоцитами плазмі крові. Мезотромбін скорочує lag-фазу колаген-індукованої агрегації тромбоцитів; посилює першу хвилю ADP-індукованої агрегації тромбоцитів, не впливаючи на швидкість агрегації; посилює першу хвилю адреналін-індукованої агрегації тромбоцитів та сприяє її вичлененню. Претромбін 1 подовжує lag-фазу колаген-індукованої агрегації тромбоцитів; знижує швидкість ADP-індукованої агрегації тромбоцитів, сприяє вичлененню першої хвилі ADP-індукованої агрегації і зменшенню швидкості агрегації; пригнічує адреналін-індуковану агрегацію тромбоцитів, зменшуючи першу та другу хвилі агрегації чи повністю нівелюючи відповідь тромбоцитів на адреналіновий сигнал.

Таким чином, мезотромбін, порівняно з тромбіном, малоефективний прокоагулянт, однак в умовах активації системи зсідання крові в місці пошкодження мезотромбін може ефективно залучати нові тромбоцити до утворення тромбу, активує їх та сприяючи їх вторинній агрегації. Натомість претромбін 1 забезпечує негативну зворотню регуляцію не лише в плазменому, але й у тромбоцитарному гемостазі.

Костюк К.

АТФ-АЗНА АКТИВІНСТЬ ТА СТАН МЕМБРАН У *CHLORELLA VULGARIS* BEIJER ЗА ДІЇ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

*Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027*

Відомо, що важкі метали (ВМ) є одними з головних забруднювачів прісних і в меншій мірі морських водойм. Як зазначають [Никаноров А. М., Жулидов А. В., Покаржевський А. Д., 1985; Линник П.М., 1986] ці токсиканти практично не руйнуються в природних умовах, змінюють форму знаходження, поступово накопичуючись в різних компонентах екосистем, і довготривало впливають на організми гідробіонтів. Не викликає сумніву й те, що першочергова реакція на вплив будь-якого токсиканту відбувається на рівні мембран. Мембрани не

лише відокремлюють одне середовище від іншого, а й забезпечують при цьому умови існування для клітин. Тому важливо знати, яким чином клітина захищається від токсичних впливів, якими механізмами адаптації і захисту володіє, і як при цьому здійснюється сам транспорт необхідних речовин для підтримання її життєдіяльності. Певною мірою відповіді на всі ці питання можна отримати, з'ясувавши зміни, що відбуваються з такими ферментними системами клітинних мембран як АТФ-азами, які забезпечують іонний обмін в мембранах та регулюють активність транспорту ряду метаболітів і є індикаторами різних зовнішніх впливів. У зв'язку з цим, метою дослідження є вивчення впливу іонів важких металів на АТФ-азну активність у хлорели.

Досліди проводили на одноклітинній синьо-зеленій водорості *Chlorella vulgaris* Beijer., яку вирощували в умовах накопичувальної культури в люмінестаті при освітленні лампами денного світла (інтенсивність 2500 лк) і температурі $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Як живильне середовище використовували розчин Фітцджеральда в модифікації Цендера і Горема (№ 11) [Топачевский А.В., 1975]. В експериментальних умовах до культури водоростей додавали водні розчини ZnSO_4 та $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ з розрахунку на кількість іонів Zn^{2+} — 1 мг/л, 2 та 5 мг/л і Pb^{2+} — 0,1 мг/л, 0,2 та 0,5 мг/л, що відповідає 1, 2 і 5 ГДК за рибогосподарським показником шкідливості [Давыдова С.Л., Тагасов В.И., 2002]. Контролем була культура, яка росла на середовищі без додавання іонів будь-яких важких металів. Виділення мембран здійснювали за методом Дж. Фіндлея та У. Еванза [Дж. Фіндлея, У. Еванза, 1990], а АТФ-азну активність оцінювали за наростанням неорганічного фосфату, який виявляли за методом Фіске та Суббароу [Прохорова М. И., 1982] і перераховували на 1 мг білка.

Як показали результати дослідження, іони ВМ інгібують АТФ-азну активність. Порівняння впливу іонів ВМ на АТФ-ази клітинних оболонок дослідженої водорості дає підстави вважати, що визначальним в їх дії є природа металу. Так, цинк, як біогенний елемент, менше інгібує фермент порівняно з таким токсикантом як свинець. Встановлена чітко виражена як концентраційна, так і часова залежність в їх дії. Зокрема, ступінь інгібування зростає з збільшенням концентрації іонів у середовищі з водоростями, а часова пролонгація свідчить, що з кожною наступною добою АТФ-азна активність зменшується, за виключенням чотирнадцятої доби для загальної АТФ-ази. На основі цитологічних досліджень ці зміни можна пояснити так: I-ша доба – показники знаходяться практично на рівні контролю, зміни у ферментативній активності мало виражені, на цитологічному рівні виявляється незначне асиметричне потовщення мембран; III доба - відбувається руйнація мембран в тих місцях, де іони ВМ взаємодіють з мембранами і проникають в клітинне середовище; VII-ма доба – виявлено помітніше руйнування мембран; диференційований підхід до вивчення АТФ-аз засвідчує, що на XIV добу загальна АТФ-аза володіє здатністю відновлювати активність, причому при всіх досліджених концентраціях і дії обох іонів ВМ, а активність Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФ-зи зменшується до нульових значень щодо контролю. Виявлено також істотне зменшення кількості клітин в часовому градієнті дії токсикантів.

В цілому, інгібування АТФ-аз іонами ВМ свідчить про глибоке порушення їх функцій в мембрані і руйнування самої мембрани.

Кравець О., Мельникова Н.

КОНЦЕНТРАЦІЯ КАЛЬЦІЮ І НЕОРГАНІЧНОГО ФОСФОРУ В КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВИ ВВЕДЕННЯ СВИНЦЮ АЦЕТАТУ

Національний університет біоресурсів і природокористування України
03041 м. Київ, вул. Потєхіна 16, навч. корп. №12

E-mail: tkach1982@gmail.com

Серед найбільш розповсюджених забруднювачів довкілля сполуки свинцю займають одне з провідних місць. Небезпечність свинцю обумовлена його здатністю інтенсивно зв'язуватись з функціональними групами білків та нуклеїнових кислот, спричиняючи тим

самим різні модифікаційні зміни цих біомолекул, ініціювати ушкодження мембранних структур, порушувати каталітичну активність багатьох ферментів (Ерстенюк Г.М., 2003). Крім того, впливаючи на різні ланки, які підтримують мінеральний гомеостаз в організмі тварин, свинець може спричиняти зміни властивостей і складу хімічних компонентів внутрішнього середовища та, зокрема, вмісту макроелементів (Грахтенберг І.М., 1994).

Зважаючи на вищесказане, метою роботи було дослідити концентрацію кальцію і неорганічного фосфору в крові щурів за умови введення свинцю ацетату.

Дослідження проводились на базі кафедри біохімії тварин, якості та безпеки сільськогосподарської продукції ім. акад. М.Ф. Гулого та віварію факультету ветеринарної медицини. В експерименті використовували білих лабораторних щурів масою тіла 220-240г. Дослідні щури були розділені на дві групи, по 8 тварин у кожній: 1 група – інтактні щури; 2 група – щури, отруєні свинцю ацетатом $\text{Pb}(\text{OAc})_2$ у дозі 5 мг/100г маси тіла тварини. Тривалість досліду складала 27 діб. Експеримент проводили відповідно до конвенції Ради Європи щодо захисту хребетних тварин, яких використовують у наукових цілях. Концентрацію кальцію і неорганічного фосфору в крові отруєних свинцем щурів визначали на біохімічному аналізаторі "Microlab-200", Нідерланди.

Аналіз результатів проведених досліджень свідчить, що концентрація неорганічного фосфору в крові отруєних щурів збільшилась на 29 % порівняно з аналогічним значенням у інтактних щурів. Ймовірно, при ураженні свинцем ниркових клубочків, зменшується їх фільтраційна здатність стосовно фосфору, що і призводить до збільшення його рівня в крові отруєних щурів (Філов В.А., 2006).

Разом з тим, концентрація кальцію в крові щурів, отруєних свинцем, навпаки, зменшилась на 36,3 % відносно цього показника в інтактних тварин. Зниження концентрації кальцію в крові отруєних щурів, можливо, пов'язане з конкуренцією цих металів на ділянках зв'язування і переносників в епітелії кишечника (Кітікова Н.В., 2006).

Таким чином, результати проведених досліджень свідчать, що свинець впливає на макроелементний склад крові отруєних щурів, що, очевидно, зумовлено його негативним впливом на різні ланки регуляції мінерального гомеостазу в організмі.

Крупко О., Тарасенко А.

АКТИВАЦІЯ ПРЕСІНАПТИЧНИХ ГЛУТАМАТНИХ РЕЦЕПТОРІВ ВПЛИВАЄ НА ПРОЦЕС НЕЙРОСЕКРЕЦІЇ В НЕРВОВИХ ТЕРМІНАЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ

Інститут біохімії ім. О.В.Палладіна НАН України, Київ, Україна

E-mail: olya_krupko@mail.ru

Відповідно до класичної теорії нейропередачі комунікація нейронів є одно напрямленою, тобто від пресинаптичної терміналі до постсинаптичного рецептору. Однак, інтенсивні дослідження механізмів нейропередачі показали, що рецептори нейротрансмітерів розташовані не тільки на постсинаптичній ділянці синапсу, але і на плазматичній мембрані пресинаптичних терміналей. Це відкриття лягло в основу нової концепції щодо ролі передачі інформації через пресинаптичні рецептори в зворотному напрямку, тобто з синаптичної щілини до нервової терміналі.

Метою проведених досліджень було вивчення впливу позаклітинного глутамату, основного медіатора процесу збудження, на нейросекреторний процес в нервових терміналях. Останній оцінювали за вивільненням гама-аміномасляної кислоти (ГАМК) та шляхом моніторингу протонного градієнту синаптичних везикул, що є рушійною силою акумуляції нейромедіаторів в синаптичних везикулах. Як основні інструменти були використані мічена протією ГАМК – ^3H -ГАМК і рН-чутливий флуоресцентний зонд акридин оранжевий.

Експерименти показали, що у відповідь на внесення глутамату посилюється вивільнення ^3H -ГАМК з нервових терміналей і цей ефект глутамату є дозозалежним.

Серія дослідів, проведених за використанням акридину оранжевого, мала на меті встановити чи впливає активація пресинаптичних глутаматних рецепторів природним агоністом, глутаматом, на протонний градієнт синаптичних везикул. Застосування цього методичного підходу дає можливість реєстрації як процесу екзоцитозу, що віддзеркалює процес нейросекреції, так і стан протонного градієнту, що віддзеркалює здатність везикул акумулювати нейромедіатор. Отримані результати свідчать, що у відповідь на позаклітинний глутамат спостерігається ефект, що є концентраційно-залежним і може бути охарактеризованим як двостадійний процес. Розвиток першої фази відповіді мав характер миттєвого зростання флуоресценції і досить швидкого повернення до вихідного рівня, що аналогічний до розвитку відповіді на деполяризацію високими концентраціями хлориду калію, при якій відбувається стимуляція процесу екзоцитозу. Відомо, що активація процесу екзоцитозу відбувається у відповідь на зростання внутрішньоклітинної концентрації кальцію, що за умов деполяризації хлоридом калію спричинюється зростанням провідності потенціал-залежних кальцієвих каналів. За умов додавання глутамату, вхід кальцію і натрію з позаклітинного середовища може відбуватися за рахунок активації іонних каналів спряжених з іонотропними глутаматними рецепторами. Як показали досліди, за умов блокування кальцієвої проникності іонних каналів глутаматних рецепторів внесенням іонів Cd^{2+} або за умов зниження рівня позаклітинного кальцію в присутності EGTA, спостерігається паралельне зменшення амплітуди відповіді як на KCl, так і глутамат, що свідчить на користь припущення, що перша швидка фаза зумовлена активацією процесу екзоцитозу у відповідь на локальний вхід Ca^{2+} через іонотропні глутаматні рецептори.

Друга повільна фаза відповіді була залежною від натрію і при заміні позаклітинного Na^+ на холін повністю блокувалася. За характером розвитку вона була аналогічною процесу дисипації протонного градієнту, що може свідчити за зміну акумуляційної здатності синаптичних везикул за умов активації пресинаптичних рецепторів.

Таким чином, отримані дані свідчать, що зростання вивільнення ГАМК може бути наслідком стимуляції процесу екзоцитозу у відповідь на активацію іонних каналів глутаматних рецепторів. Щодо впливу процесу дисипації протонного градієнту на процес нейросекреції, то це питання потребує подальших досліджень.

Кубайчук К., Мінченко Д.

ЕКСПРЕСІЯ VEGF У ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИНАХ ЛЕГЕНЬ

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

вул. Леонтовича, 9, 01601 Київ

E-mail: katrissa@online.ua

Ангіогенез є необхідним як при розвитку та диференціації органів під час ембріогенезу, так і при фізіологічних процесах в дорослому організмі, зокрема при репродуктивних функціях та в скелетних м'язах при тривалих фізичних навантаженнях. Але ангіогенез може мати місце і при різноманітних патологічних процесах: ретинопатії, ревматоїдному артриті, псоріазі та рості злоякісних пухлин.

Фундаментальну роль як у фізіологічному, так і у патологічному ангіогенезі відіграє VEGF, який є гомодимерним глікопротеїдом, що має функцію клітино-специфічного мітогену, структурно спорідненого до фактору росту тромбоцитів. Синтез VEGF є підвищеним в злоякісних пухлинах, де спостерігається гіпоксичний стан, індукований залежним від гіпоксії транскрипційним фактором HIF, рівень і активність якого є досить високими в ракових пухлинах. Саме HIF є одним з головних індукторів експресії VEGF в злоякісних пухлинах. Цілком зрозуміло, що залежно від патології та мети лікування, VEGF може бути як небажаним фактором так і навпаки, таким, що покращує відновлення пошкоджених тканин та видужування пацієнтів. Пригнічення пухлинного росту шляхом обмеження

ангіогенезу (за допомогою інгібування VEGF), у поєднанні з хіміотерапією, подовжує життя пацієнтам із злоякісними захворюваннями, і таким чином є багатообіцяючим методом лікування раку.

В роботі було проведено дослідження експресії VEGF мРНК у злоякісних пухлинах легень та в здоровій легеневій тканині людей з використанням методу молекулярної РНК-РНК гібридизації. Виявлено значне збільшення рівня експресії VEGF мРНК в злоякісних пухлинах легень людей у порівнянні з рівнем її експресії в зразках здорової тканини тих же пацієнтів, що корелює з посиленою експресією HIF. Варто зазначити, що у здорових тканинах експресія VEGF проходить на дуже низькому рівні.

Таким чином, проведені дослідження вказують на важливу роль експресії VEGF в ангіогенезі злоякісних пухлин.

Кобильник С., Кулібаба О., Янчукова А., Дузенко О.

ВПЛИВ ІМПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНАЛЬНОЇ ТКАНИНИ НА АКТИВНІСТЬ ДЕГІДРОГЕНАЗ ЦТК СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ ЩУРІВ

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова

Пров. Шампанський 2, Одеса, Україна, 65058

В останні десятиріччя в багатьох науково-дослідних лабораторіях світу проводиться інтенсивне вивчення наслідків імплантації ембріональних тканин.

Метою нашого дослідження було вивчення впливу імплантації ембріональної тканини на активність дегідрогеназ ЦТК скелетних м'язів щурів. Дослідження були проведені з застосуванням тканин одномісячних ембріонів щурів. Досліджуваними тканинами були очеревина та скелетні м'язи. Активність дегідрогеназ ЦТК визначали в імплантованій тканині та тканинах реципієнтів через 1, 3 та 7 діб після трансплантації.

В результаті досліджень ми встановили, що в скелетних м'язах реципієнтів через 1 та 3 доби після імплантації спостерігається значне збільшення активності майже всіх досліджуваних дегідрогеназ ЦТК. В той же час активність цих дегідрогеназ в імплантованій тканині істотно зменшується.

Аналогічні закономірності були виражені значно в меншій мірі в очеревині.

Таким чином, було встановлено, що імплантація ембріональних тканин призводить до стимуляції активності дегідрогеназ ЦТК в тканинах реципієнтів та зменшення відповідних показників в імплантованих тканинах.

Кулініч А., Маслак Г.

УТВОРЕННЯ ФРАГМЕНТІВ ФІБРОНЕКТИНУ ПІД ДІЄЮ РІЗНИХ ПРОТЕОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ

Дніпропетровська державна медична академія

вул. Дзержинського, 9, м. Дніпропетровськ, 49044, Україна

E-mail: kulan.85@mail.ru

Фібронектин (Фн) – високомолекулярний мультифункціональний глікопротеїн плазми крові та екстрацелюлярного матриксу, що відіграє важливу роль у багатьох клітинних та біохімічних процесах. Молекула Фн містить три типи гомологічних послідовностей, що організовані у домени з відповідною функціональною активністю. Ділянки між доменами є чутливими до дії протеолітичних ферментів. Відомо, що при багатьох захворюваннях змінюється активність внутрішньо- та зовнішньоклітинних протеаз і, як наслідок, змінюється ступінь деградації Фн. Виходячи з припущення, що спектр утворених фрагментів (фФн) залежить від специфічності та активності протеаз, ми досліджували серинові, цинкові та цистеїнові протеази.

Для цього використовували вестерн-блот аналіз з поліклональною антисироваткою до Фн. Протеоліз стандартного високоочищеного препарату (Sigma) та Фн плазми крові здійснювали *in vitro* при 37 С ° впродовж 1, 2, 4, 6, 12 та 24 год при інкубуванні з матричною ме-

талопротеїназою (ММР) -2 та -9 (Sigma), трипсином (Sigma), колагеназою (Mannheim Boehringer), стрептокіназою (Bharat Serums and Vaccines Limited). Співвідношення субстрат-фермент підбирали в залежності від активності ферменту.

Слід зазначити, що всі перелічені вище ферменти однаково впливали як на плазмовий, так і на клітинний Фн (стандартний препарат та Фн зразків плазми). Під дією трипсину зникає нативна субодиниця Фн, зменшується вміст високомолекулярних фрагментів. Велику кількість середньо- та низькомолекулярних фрагментів генерує трипсин (145-17 кДа) та колагеназа, значно менше ММР-2 та стрептокіназа. Виключення складає ММР-9: в досліджуваних зразках плазми цей фермент не підвищував ступінь фрагментованості за означених вище умов інкубації.

Визначення фФн, що утворюються під дією протеолітичних ферментів в умовах *in vitro* є теоретичною основою для оцінки ступеню деградації Фн при різних патологічних станах.

Курас Л.

ВПЛИВ НІТРИТУ НАТРІЮ НА ПОКАЗНИКИ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН.

*Івано-Франківський національний медичний університет
вул. Галицька, 2, м. Івано-Франківськ, 76000, Україна*

Однією із основних проблем медицини і біології є вивчення впливу ксенобіотиків на здоров'я людини. До поширених ксенобіотиків відносять нітрити, які поступають в організм людини. З літературних джерел відомо, що при нітритній інтоксикації відбувається інтенсивне утворення метгемоглобіну, порушення транспорту кисню до клітин, зміни зі сторони вуглеводного та ліпідного обмінів. Однак на сьогоднішній день залишаються нез'ясованими механізми впливу нітритів на енергетичний обмін. У зв'язку з цим актуальними є дослідження показників енергетичного обміну: ферментів, а також метаболітів, які служать прогностичним і діагностичним критерієм при нітритній інтоксикації. Нами досліджено концентрацію молочної та піровиноградної кислот плазми крові; активність Na^+ , K^+ -активуючої, Mg^{2+} -залежної АТФ-ази в крові за умов нітритної інтоксикації. Інтоксикацію моделювали наступним чином: нітрит натрію ($NaNO_2$) вводили з питною водою в дозі $1/10 LD_{50}$. Інтактні тварини одержували очищену питну воду. Дослідження проводили на нелінійних щурах-самцях із масою тіла 150-220 г. Забір матеріалу проводили під легким ефірним наркозом на 1, 14 і 28-у доби після завершення введення нітриту натрію. Показники енергетичного обміну визначали таким чином: активність Na^+ , K^+ -активуючої, Mg^{2+} -залежної АТФ-ази визначали за різницею активностей у присутності та відсутності уабаїну (строфантину); піровиноградну кислоту – за кількістю похідних 2,4-динітрофенілгідрозону (2,4-ДНФГ); молочну кислоту визначали за реакцією з параоксидифенілом. Проведеними дослідженнями встановлено зростання активності Na^+ , K^+ -активуючої, Mg^{2+} -залежної АТФ-ази у 2-2,5 рази на 1-у і 28-у доби відповідно в крові тварин, яким вводили нітрит натрію порівняно з інтактними тваринами. Проте найбільша активність цього ферменту спостерігалась на 14-у добу у 4,5 рази вищою, порівняно з контрольними тваринами. Дослідження концентрації піровиноградної кислоти показали, що даний показник знижувався у порівнянні до інтоксикованих тварин на 1-у добу, після завершення введення нітриту натрію, у 1,6 рази, а на 14-у добу – у 1,2 рази. Однак на 28-у добу цей показник зростає до рівня контрольних тварин. Рівень молочної кислоти був максимальний, в 3,5 рази більший, на 1-у добу нітритної інтоксикації порівняно з інтактними тваринами. У наступні періоди інтоксикації нами встановлено зниження даного показника у 3 рази на 14-у добу і у 2,5 рази на 28-у добу, ніж у інтактних тварин. Одержані дані дозволять стверджувати про порушення енергетичного обміну за умов нітритної інтоксикації, що підтверджується зниженням вмісту пірувату на фоні зростання лактату і підвищення АТФ-азної активності. Зважаючи на це, актуальними є подальші дослідження енергетичного обміну організму та пошуків засобів корекції таких патологічних станів.

Лапа О., Мельникова Н.

ВМІСТ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ОТРУСННЯ ЦЕЗІЄМ

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: magystr_dep@twin.nauu.kiev.ua

Проблема токсикології важких металів, віднесених в останні роки до числа глобальних забруднювачів навколишнього середовища, є традиційною для українських дослідників. У роботах ведучих токсикологів показано, що взаємодія хімічних речовин з компонентами клітини, молекулами клітинних органел та мембран лежить в основі механізму їх токсичної дії (Мацевич, 2001). Однак, в розробці цієї складної проблеми ще є ряд не вивчених питань, які потребують подальших досліджень з позиції біохімічної токсикології. Так, до цього часу залишаються нерозкритими окремі аспекти вивчення молекулярних і клітинних механізмів у патогенезі інтоксикацій важкими металами [Власик Л.І., 2003]. Не повністю вивчений вплив важких металів на розподіл і накопичення мінеральних речовин в органах та тканинах тварин.

Україна має могутній мінерально-сировинний комплекс, активна експлуатація якого може викликати появу так званих геохімічних аномалій. Серед важких металів, що забруднюють навколишнє середовище солі цезію викликають особливе занепокоєння щодо охорони довкілля [Трахтенберг И.М., 2004].

Метою нашої роботи було вивчення впливу цезієвого отруєння на вміст іонів заліза, міді і цинку у легенях та селезінці щурів.

Для досліджень використовували самців білих лабораторних щурів, вагою 180 – 200 г, віком 4 місяці. Отруєння щурів проводилось шляхом введення цезію хлориду

внутрішньочеревинно, в дозах $1/15 \text{ ЛД}_{50}$ (0,01 г / на 100 г маси тіла). Дослід тривав 14 діб. Дослідження були виконані на двох групах тварин, у кожному з яких було відібрано по 12 щурів; перша група - інтактні, друга – тварини, отруєні цезію хлоридом. Декапітацію щурів проводили під легким ефірним наркозом. Для проведення біохімічних аналізів відбирали зразки селезінки та легенів. Вміст цезію, заліза, міді і цинку в органах проводили на атомно – адсорбційному спектрофотометрі ААС – 30 (Німеччина).

За результатами проведених досліджень, на фоні значного підвищення вмісту цезію у легенях щурів спостерігається збільшення вмісту міді у 4 рази порівняно з інтактними тваринами. При цьому вміст цинку в легенях отруєних щурів збільшився на 43 %. У селезінці отруєних щурів вміст міді зростає на 40 %, а цинку – на 50 % порівняно з інтактними тваринами. Виявлені зміни вмісту окремих мікроелементів, очевидно є наслідком впливу цезію на функціонування органів і систем, які забезпечують водно-сольовий і кислотно-лужний гомеостаз та проявляються в порушенні метаболічних процесів в організмі отруєних щурів.

Збільшення вмісту цезію не змінило вмісту заліза в легенях та селезінці отруєних щурів у порівнянні з інтактною групою тварин. Можливо це пояснюється тим, що надмірне накопичення міді сприяє кращому використанню резервів заліза та посиленню активності ферментів, які містять групу гему.

Отже, на основі проведених досліджень можна зробити висновок, що цезій у надлишкових кількостях може впливати на процеси мінерального обміну у клітинах легень та селезінки, викликаючи значне збільшення у цих органах вмісту міді і цинку та не впливає на накопичення заліза.

Лихолат Т.

ПРОТЕОГЛІКАНИ ТА ЇХ РОЛЬ У НЕРВОВІЙ СИСТЕМІ

Дніпропетровський національний університет ім.Олеса Гончара

Дніпропетровськ, пр. Гагаріна 72, 49010

E-mail: Lykholat2006@ukr.net

Протеоглікани – це сімейство гібридних молекул, що є білками, ковалентно зв'язаними з полісахаридами, доля яких в молекулі складає 95 %. Протеоглікани присутні в гелеподібній

основній речовині (“міжклітинному цементі”), що заповнює у більшості тканин простір між клітинами. Крім того, вони вміщуються в хрящах, сухожиллях і шкірі, синовіальній рідині, яка виконує функцію мастила у суглобах, скловидному тілі, рогівці ока, кровоносних судинах, серцевому м’язі, нирках. Пружні ланцюги протеогліканів утворюють макромолекулярні сітчасті структури. Така хімічна будова забезпечує виконання функції молекулярного сита з певними розмірами пор при транспорті різних речовин і метаболітів.

Натепер доведена важлива роль участі протеогліканів та їх основних складових – глікозаміногліканів у багатьох життєвоважливих ланках функціонування організму на біохімічному рівні. Зокрема, важлива її участь в побудові тканин, забезпеченні існування позаклітинної оболонки, функціонування в процесах передачі сигналу в клітину. Така ситуація обумовлює розвиток протеогліканових досліджень по багатьом напрямам за участю фахівців різних областей знання. Складні мембранні молекули, такі як гепарансульфатні протеоглікани, беруть участь в передачі просторовій інформації від мікрооточення до клітини, викликаючи, залежно від сигналу, адгезію або міграцію. Клітини отримують сигнал до міграції або до фокальної адгезії шляхом взаємодії мембранних клітинних рецепторів (наприклад, інтегринів) з білками позаклітинного матриксу (через гепарансульфатні бічні ланцюги протеогліканів) з одного боку, і білками цитоскелета (за допомогою цитоплазматичних доменів гепарансульфатних протеогліканів) з іншого боку (Couchman et al., 2001; Bishop et al., 2007). Таким чином, «ухвалення» кліткою доленосних рішень залежить від сполучення сигналів, що поступають від пов’язання з гепарансульфатними протеогліканами, і механізмів адгезії, опосередкованих інтегринами (Bishop et al., 2007). Нейрональні протеоглікани, зокрема нейрокан та фосфокан, приймають участь у проведенні сигналу аксонами, у міжклітинній взаємодії (Meyer-Puttlitz, 1996), модулює нейрональну адгезію (Friedlander, 1994).

У мозку, що розвивається, хондроїтін сульфат протеоглікани визначають напрям ранніх еферентних молекулярних сигналів, що призводить до росту таламокортикальних аксонів (Miller, 1995).

В той же час, наведені дані, що фосфокан і нейрокан в області реактивного гліозу можуть приймати участь в порушенні регенерації аксонів при пошкодженні центральної нервової системи (Hoffman, 1987; McKeon, 1999; Tan, 2006; Laabs, 2007).

Лобурець Ю., Ткаченко Т.

АКТИВНІСТЬ АМІНОТРАНСФЕРАЗ У КРОВІ ЩУРІВ, ОТРУЄНИХ СВИНЦЮ АЦЕТАТОМ

Національний університет біоресурсів і природокористування України

03041 м. Київ, вул. Потехіна 16, навч. корп. №12

E-mail: tkach1982@gmail.com

Свинець – це ксенобіотик, який має виражені мембранотоксичні властивості, здатний до кумуляції в тканинах і за тривалої дії спричиняє негативні ефекти, що проявляються зміною активності ферментів та перебігу основних біохімічних процесів. Взаємодія важких металів та, зокрема, свинцю з компонентами клітинних органел і мембран лежить в основі їх біологічної дії. Від того, в якій кількості свинець накопичується в тих чи інших субклітинних структурах, залежить ступінь пошкодження самої клітини, а відповідно, тканин і органів (Куценко С.А., 2004).

Прямим показником порушення цілісності клітин і субклітинних органел є зміна каталітичної активності локалізованих в них специфічних ферментних систем. Оскільки печінка у значних кількостях накопичує свинець і відіграє важливу роль у метаболізмі цього важкого металу, вона є первинною мішенню для деструктивної дії його іонів (Луговской С.П., 2004).

Саме тому метою роботи було дослідити активність амінотрансфераз в крові отруєних свинцем щурів як маркерних ферментів при ураженні клітин печінки.

Дослідження проводились на базі кафедри біохімії тварин, якості та безпеки сільськогосподарської продукції ім. акад. М.Ф. Гулого та віварію факультету ветеринарної медицини. В експерименті використовували білих лабораторних щурів масою тіла 220-240г. Дослідні щури були розділені на дві групи, по 8 тварин у кожній: 1 група – інтактні щури;

2 група – щури, отруєні свинцю ацетатом $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ у дозі 5 мг/100г маси тіла тварини. Тривалість досліду складала 27 діб. Експеримент проводили відповідно до конвенції Ради Європи щодо захисту хребетних тварин, яких використовують у наукових цілях. Активність аланінамінотрансферази і аспартатамінотрансферази в крові отруєних свинцем щурів визначали на біохімічному аналізаторі "Microlab-200", Нідерланди.

Результатами проведених досліджень встановлено, що отруєння щурів свинцю ацетатом викликає зміну активності амінотрансфераз в крові. Так, відмічали підвищення в крові отруєних щурів активності аланінамінотрансферази в 2 рази порівняно з її активністю в крові інтактних тварин. Активність аспартатамінотрансферази також зросла в 1,45 рази відносно цього значення в інтактних щурів.

Зростання активності в крові амінотрансфераз свідчить про токсичне ураження печінки, яке пов'язане з високим тропізмом свинцю стосовно гепатоцитів. Пошкодження мембран гепатоцитів призводить до вивільнення локалізованих в цих клітинах ферментів, зокрема, аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази, що і спричиняє підвищення їх активності в крові.

Логаза Л., Хопта Н.

ВПЛИВ НІТРИТНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ НА ПОКАЗНИКИ КРОВІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН

Івано-Франківський національний медичний університет

76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2

E-mail: khopta@list.ru

Одне з провідних місць серед найбільш розповсюджених забруднювачів довкілля займають нітрогеновмісні сполуки, зокрема нітрати та нітрити. Внаслідок нераціонального використання азотних добрив, забруднення промисловими та побутовими відходами зростає вміст нітратів у питній воді та продуктах харчування. Нітрити являють собою проміжний продукт відновлення нітратів. Загальновідоме також застосування нітритів для консервування м'ясних та рибних харчових продуктів. Отже, має місце практично щоденне надходження цих ксенобіотиків в організм людини. Головною мішенню токсичної дії нітритів є форменні елементи крові, зокрема, еритроцити.

Метою дослідження було вивчення впливу нітриту натрію на показники периферичної крові та вміст мікроелементів Феруму та Купруму в еритроцитах.

Дослідження проводили на білих безпородних щурах-самцях масою 200-280 г, яких утримували на стандартному раціоні в умовах віварію. Експеримент проводили з дотриманням вимог біоетики, відповідно до положень Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин (Страсбург, 1986). Моделювали хронічну нітритну інтоксикацію введенням нітриту натрію з питною водою в дозі $1/10 \text{ LD}_{50}$ протягом 10 днів. Тварин ($n=30$) було поділено на дві групи: 1 – інтактні, отримували звичайну питну воду, 2 – уражені NaNO_2 . Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під легким ефірним наркозом на 1-у, 14-у та 28-у добу після завершення інтоксикації. Визначали показники периферичної крові, зокрема, число еритроцитів, концентрацію загального гемоглобіну, концентрацію гемоглобіну в одному еритроциті, середній об'єм еритроцита та кисневу ємність крові за загальноприйнятими методиками, а також рівень Феруму та Купруму в еритроцитах атомно-абсорбційним методом.

У динаміці нітритної інтоксикації спостерігались зміни показників периферичної крові: на 1-у добу число еритроцитів зменшилось у 1,1 рази, при цьому середній об'єм еритроцита збільшився у 1,8 разів, концентрація гемоглобіну зменшилась в 1,2 рази і середня концентрація гемоглобіну в одному еритроциті також зменшилась в 1,5 разів порівняно з показниками інтактних тварин. Проте, на 14-у добу після завершення введення NaNO_2 спостерігались зміни, які супроводжувались зниженням загальної концентрації гемоглобіну, середньої концентрації гемоглобіну в одному еритроциті та середнього об'єму еритроцита, але при цьому число еритроцитів збільшилося в порівнянні з контрольною групою. Однак, у віддаленому періоді після ін-

токсикації (на 28-у добу) зміни були більш суттєвими. Так, число еритроцитів збільшилося уже в 1,4 рази, при цьому загальна концентрація гемоглобіну, середня концентрація гемоглобіну в одному еритроциті та середній об'єм еритроциту знизились в 2,1-2,5 разів. Киснева ємність крові уражених тварин у всі періоди після інтоксикації мала тенденцію до зниження.

У метаболічних процесах, що проходять в еритроцитах, важлива роль належить таким есенціальним елементам, як Ферум та Купрум. Дослідження виявило, що рівень Fe знижується на 10% на першу добу після завершення інтоксикації, а на 14-у незначно (на 4-5%) перевищує відповідні значення інтактних тварин. Концентрація в золі еритроцитів Cu збільшується особливо суттєво на 1-у та 14-у добу – відповідно на 24% і 21% порівняно з рівнем цього мікроелемента в еритроцитах тварин, що не зазнали ураження.

Отримані результати створюють підґрунтя для наступних досліджень, пов'язаних з вивченням особливостей метаболізму в еритроцитах за умов тривалої нітритної інтоксикації.

Луцкевич К., Жулай В.

**ЗМІНИ АКТИВНОСТІ АМІНОТРАНСФЕРАЗ У КРОЛІВ,
ОБУМОВЛЕНІ ЯВИЩЕМ ШТУЧНОГО ГІПОБІОЗУ**

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: VitaliyZhulay@twin.nauu.kiev.ua

Наукові пошуки молекулярних механізмів переходу тварин у стан природного і штучного зниження життєдіяльності та перебування в ньому належать до найактуальніших проблем сучасної біохімії.

Досліди проводили у лабораторії «Біохімії гіпобіозу» на базі кафедри біохімії тварин, якості і безпеки сільськогосподарської продукції імені акад. М.Ф.Гулого. Для досліджень використовували кролів масою 1,5-1,7 кг, яких утримували у віварії ННІ ВМЯБПТ НУБІП України. Умови утримання та годівлі відповідали ветеринарно-санітарним та зоогігієнічним вимогам.

Кролів вводили у стан штучного вуглекислотного гіпобіозу (перша дослідна група тварин), тварин другої дослідної групи піддавали дії одного із гіпобіотичних чинників – холодового, контролем були інтактні тварини. Відбирали кров з вени вуха, після чого отримували плазму крові шляхом центрифугування.

Негайно після знеживлення тварин отримували зразки печінки. Визначали активність ферментів аланінамінотрансферази (АлАТ) та аспартатамінотрансферази (АсАТ) на біохімічному аналізаторі Microlab 200 тестовими наборами за відповідними методиками фірми «Human». Результати досліджень були опрацьовані методами варіаційної статистики та за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel.

В результаті проведених досліджень було отримано наступні результати: спостерігалось зниження активності аланінамінотрансферази у стані гіпобіозу на 28% та невірогідне підвищення активності аспартатамінотрансферази.

Активність амінотрансфераз при дії холодового чинника незначно знижувалась. Аланінамінотрансфераза каталізує реакцію трансамінування між аланіном та α -кетоглутаровою кислотою з утворенням пірувату і глутамату. Реакція зворотня за фізіологічних умов (константа рівноваги за значенням близька до 1). Фермент виявлено практично в усіх тканинах ссавців, але найактивніший він у печінці.

Отже, одержані дані показують, що зниження забезпечення киснем тканин активує процеси гліколізу. Легкий ацидоз, який спостерігається за гіпобіозу, знижуючи інтенсивність гліколізу, викликає зростання глюконеогенезу.

Одержані результати дають можливість припустити, що за даних умов цитоплазматична АлАТ відіграє важливу роль, оскільки вона задіяна в регуляції глюконеогенезу в печінці, а до 50% вуглеводів, що синтезуються в цьому процесі, утворюються з аланіну.

Аспартатамінотрансфераза каталізує реакцію трансамінування між аспартатом та α -кетоглутаровою кислотою з утворенням щавелевооцтової кислоти та глутамату. Реакція також зворотня за фізіологічних умов (константа рівноваги за значенням близька до 1). Фермент виявлено практично в усіх тканинах ссавців, але найактивніший він у печінці, мозку, серцевих та скелетних м'язах.

АсАТ представлена двома формами, одна з яких локалізована в цитозоплазмі, інша - в мітохондріях клітин. Ці форми фермента відрізняються за фізико-хімічними властивостями, залежністю від рН та за кінетичними властивостями: вони мають різну спорідненість до субстрату, в результаті чого реакція в мітохондріях зсунута в бік утворення α -кетоглутарату і пов'язана з функціонуванням циклу Кребса.

Одержані нами результати дають можливість припустити, що оскільки за формування гіпобіотичного стану відбувається гальмування ЦТК, то в цьому процесі певну роль відіграє і мітохондріальна АсАТ.

Лянна О., Чорна В.

УЧАСТЬ ЦИСТЕЇНОВИХ КАТЕПСИНІВ В АДАПТИВНІЙ ВІДПОВІДІ ОРГАНІЗМУ НА ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНИЙ СОМАТОГЕННИЙ БІЛЬ

Дніпропетровський національний університет ім. О. Гончара

E-mail: olga_lyannaya@mail.ru

Відомо, що для онкологічних хворих одним із наслідків хвороби є біль. Показано, що лізосомно-вакуолярний апарат безпосередньо залучений до перебігу як фізіологічних (росту дендритів, утворенні синапсів, стабілізації та ремоделюванні персистуючих синапсів, відновленні пошкоджених аксонів), так і патологічних (нейродегенеративних тощо) процесів клітин нервової, а завдяки своїй реактивності та потужному гідролітичному потенціалу, може бути граничною ланкою в механізмі підвищення природної резистентності організму. Залучення лізосомних цистеїнових катепсинів до механізмів післяопераційного болю вивчено на експериментальній моделі післяопераційного соматогенного болю. В умовах поставленого експерименту досліджено динаміку активності катепсинів у структурах та відділах головного мозку, залучених до ноцицептивних механізмів, та сироватці крові шурів. Оперативне втручання призводило до появи гіпералгезії на першу добу після операції, про що свідчили також показники фізіологічної активності тварин, отримані за допомогою тестування у "відкритому полі". Було показано, що в наступні дні післяопераційного періоду спостерігалось майже повне відновлення емоційної складової та частково – фізіологічної активності дослідних шурів, що свідчило про відсутність феномена хронічного болю у даній моделі. Дослідження активності цистеїнових катепсинів проводили через 24 години після хірургічного втручання, в період найбільш вираженої гіпералгезії, та на сьому добу. Встановлено, що після проведення операції в досліджуваних структурах та відділах головного мозку шурів відбуваються зміни ферментативної активності цистеїнових катепсинів. Показано, що на першу добу післяопераційного періоду виявлено найбільш виражені зміни активності катепсину В, які проявляються у збільшенні активності ферменту у неокортексі, продовгуватому мозку та таламусі/гіпоталамусі в 2,8, 6,0 і 11,0 рази відповідно, а також зменшенні досліджуваного показника на 32% у гіпокампі. Рівень активності катепсину L на першу добу після хірургічного втручання виявлено збільшеним у 1,7 та 7,6 рази у гіпокампі та продовгуватому мозку шурів відповідно. Через тиждень після оперативного втручання в досліджуваних структурах та відділах мозку шурів встановлено тенденцію до нормалізації показників ферментативної активності катепсинів.

Динаміка активності катепсинів В та L в досліджуваних структурах та відділах мозку шурів свідчить про те, що у відповідь на післяопераційний біль відбуваються порушення функціонального стану лізосомно-вакуолярного апарату клітин мозку, які проявляються в різноспрямованих змінах активності пептидгідролаз та активації протеолітичних процесів.

Мазур Ю.

АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ ЕНЕРГООБМІНУ В ЕМБРІОНАЛЬНІЙ ОЧЕРЕВІНІ КРОЛЯ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

З огляду на широке застосування трансплантації стовбурових, ембріональних та фетальних тканин і клітин у сучасній медицині актуальним є вивчення особливостей їх метаболізму й енергообміну, зокрема.

Активність досліджуваних ферментів енергообміну : глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (ГЛ-6-ФДГ), сукцинатдегідрогенази (СДГ), малатдегідрогенази цитоплазматичної (МГДц) та мітохондріальної (МДГм). визначали в ембріональній очеревині двохтижневого ембріона кроля ($n = 7$). Контрольну групу склали статевозрілі неімбредні самці кролів ($n=7$) ,дослідження активності вищевказаних ферментів у яких проводились в тканині тонкого кишківника. Усі експерименти проводились у відповідності до вимог Європейської конвенції щодо тварин, які використовуються в наукових цілях.

В результаті проведених експериментальних досліджень констатовано наступне: активність ГЛ-6-ФДГ в ембріональній очеревині порівняно з контролем становила : $0,89 \pm 0,17$ та відповідно $1,93 \pm 0,36$ нмоль НАДФН2 /хв·мг білка ($p \geq 0,005$), активність СДГ відповідно $1,54 \pm 0,19$ та $1,53 \pm 0,17$ нмоль сукцинату/хв·мг білка ($p \geq 0,005$), активність МГДц відповідно $26,87 \pm 4,78$ та $30,76 \pm 2,10$ мкмоль НАДН2/хв·мг білка ($p \geq 0,05$), активність МДГм становила в ембріональній тканині $40,76 \pm 2,74$ та відповідно у зрілої особини $26,87 \pm 4,78$ мкмоль НАДН2/хв·мг білка ($p \geq 0,05$).

Встановлена активність досліджуваних ферментів в ембріональній тканині зумовлена, очевидно, ступінню її диференціації та рівнем функціональної активності.

Машевська О.

ПРОКСИДАНТНІ МЕХАНІЗМИ ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ НИРОК ЦИСПЛАТИНОМ. ПРОТЕКТИВНА ДІЯ ТРИМЕТАЗИДИНУ, ДИСФЕРІОКСАМІНУ, ГЕНІСТЕЇНУ ТА ДИМЕТИЛТІОСЕЧОВИНИ.

Вінницький національний медичний університет ім.М.І.Пирогова

E-mail: mashevskaya1@yandex.ru

Нефротоксичність є одним з важливих чинників, який обмежує застосування цисплатину в онкологічній практиці. Цисплатин здатен викликати порушення ниркової гемодинаміки, ініціювати інфламаторні та аутоімунні пошкодження. Препарат виявляє мітохондріальну токсичність та проапоптичні ефекти. Враховуючи здатність комплексних сполук платини ініціювати утворення активних форм кисню, можна думати про наявність прооксидантних механізмів токсичної дії цисплатину на нирки.

Метою роботи було виявити роль оксидативного стресу в ураженні нирок шурів цисплатином та оцінити нефропротективну дію антиоксидантів геністеїну, триметазидину, диметилсечовини та хелатора іонів заліза дисфериоксаміну.

Досліди проведені на 95 щурах-самцях. Цисплатин вводили інтраперитонеально в дозі 7 мг/кг одноразово. Із дослідів тварин виводили на 3 добу. Частина тварин отримували протягом 7 днів ізофлавоноїд геністеїн в дозі 0,5 мг/кг, або триметазидин в дозі 10 мг/кг (5 днів перед введенням та ще 2 дні після введення цисплатину) .Диметилтіосечовину вводили тричі - перший раз в дозі 500 мг/кг за 1 год перед введенням цисплатину, а потім в дозі 125 мг/кг через 12 та 24 год після введення цисплатину. Десферріоксамін (десферал) вводили в дозі 100 мг/кг за 1 год перед введенням цисплатину. Встановлено, що цисплатин викликає у шурів зростання рівнів сечовини, креатиніну молекул середньої маси в сироватці крові в 5,9, 3,3 та 3,2 рази, падіння в 3 рази клубочкової фільтрації, посилення екскреції з сечею гаматламілтрансферази, білку та глюкози в 5,2, 4,7 та 4,3 рази. В нирках цисплатин викликає зниження вмісту геміу та активності аконітази в 1,8 та 1,9 разів, накопичення продуктів

пероксидації- вміст карбонільних груп білків та малонового діальдегіду зростає в 2,3 та 2,4 рази, реєструється падіння активності глутатіонпероксидази та глюкозо-6-фосфатази в 1,9 та 2,3 рази, зниження рівня АТФ в нирках сягає 32%, в 3,5 разів підвищується активність прооксидантного ферменту ксантиноксидази, а активність ксантингідрогенази зменшується в 2,6 раз, в той-же час активність NADPH-оксидази збільшується в 2,3 рази по відношенню до інтактних тварин. Встановлено, що серед випробуваних нами антиоксидантів найвищу нефропротекторну дію виявили диметилтіосечовина та десферіоксамін, проміжну - триметазидин, і найменшу – геністеїн. Зокрема у тварин, що попередньо отримували диметилтіосечовину, рівень сечовини, креатиніну та молекул середньої маси зростає в 2,8, 1,9 та 1,9 разів, тоді як у нелікованих тварин – в 5,9, 3,3 та 3,2 рази. Ці ж препарати займали лідуючі позиції і за здатністю профілактувати тубулярні ушкодження нирок. У тварин, яким вводили як диметилтіосечовину, так і десферіоксамін, цисплатин викликав підвищення екскреції гамаглутамілтрансфери, протеїнурию та глюкозурію які зростали в 3,2, 2,6 та 2,7 разів менше ніж у нелікованих тварин. Триметазидин та геністеїн в меншій мірі покращували показники клубочкової фільтрації. Диметилтіосечовина та десферіоксамін ефективно попереджали зменшення вмісту гемату та активності аконітази в нирках, значно протидіяли процесам пероксидації ліпідів та білків. Наприклад, після введення диметилтіосечовини вміст малонового діальдегіду та карбонільних груп зростає на 37,2 та 36,5% в порівнянні із нелікованими тваринами, активність глутатіонпероксидази та глюкозо-6-фосфатази зменшувалась лише на 23,2 та 24,7%, а рівень АТФ зменшувався всього на 14,4%. Подібну тенденцію виявив і десферіоксамін, зменшуючи активність ксантиноксидази на 32% , підвищуючи активність ксантингідрогенази та NADPH-оксидази в 1,8 та 2,5 разів, відповідно. Таким чином, важливе значення ініційованого введенням цисплатину оксидативного стресу підтверджується ефективністю введених препаратів з антиоксидантними властивостями, проте жоден із антиоксидантів повністю не попереджував нефротоксичний вплив цисплатину на нирки.

Машейко І., Стекленцова Н.

ЗМІНИ КОНЦЕНТРАЦІЇ ТА ГЛІКОЗИЛЬОВАНОСТІ α_1 -КИСЛОГО ГЛІКОПРОТЕЇНУ У ПЛАЗМІ КРОВІ ПРИ ПОРУШЕННЯХ ГЕМОКОАГУЛЯЦІЇ

*Кафедра біохімії, медичної та фармацевтичної хімії
Дніпропетровська державна медична академія
м. Дніпропетровськ, вул. Дзержинського 9, 49044, ДДМА
E-mail: mash_7@mail.ru*

Згідно з сучасними даними, розвиток багатьох патологічних станів, призводить до значних змін з боку коагуляційного гемостазу, що супроводжується порушеннями процесів синтезу і глікозилювання протеїнів. Одним з таких білків є альфа-кислий глікопротеїн (орозомукоїд, АГП) – гострофазний білок , який переважно синтезується у печінці. Мікрогетерогенність орозомукоїду обумовлена наявністю у крові декількох його глікоформ, зміна співвідношення яких може виявлятися на фоні значних коливань його концентрації у плазмі крові.

Метою нашої роботи було дослідження змін вмісту та характеру глікозилюваності АГП у зразках плазми крові хворих з порушеннями гемокоагуляції.

Концентрацію й глікозилюваність АГП визначали в сироватці 26 хворих. Контрольна група складала 10 здорових донорів. Вміст АГП визначали методом ДОТ-аналізу, з використанням у якості первинних антитіл моноспецифічної антисироватки. Для кількісної оцінки фракцій АГП проводили лектин-ферментний аналіз з використанням деглікозилюваних антитіл до АГП та лектинів *Canavalia ensiformis* (ConA), *Maackia amurensis* аглютинін (МАО), *Aleuria aurantia* (ААО) мічених пероксидазою хрому.

Середній вміст АГП у сироватці здорових людей (10) склав $0,542 \pm 0,018$ г/л. У групі хворих з гіперкоагуляцією на фоні атеросклерозу (13): вміст АГП був підвищений у 38% ($0,8707 \pm 0,0339$ г/л), у межах норми у 47% ($0,5627 \pm 0,1125$ г/л), понижений у 15%

($0,2976 \pm 0,0624$ г/л). У групі хворих (8) без порушень гемостазу, але з онкопатологією у активній фазі, підвищення вмісту АГП спостерігалось у 50% випадків ($1,744 \pm 0,092$ г/л), та у 50% – його вміст перебував у межах норми ($0,5682 \pm 0,1278$ г/л). У групі хворих з гіпокоагуляцією та онкопатологією на фоні хіміотерапії у 40% вміст АГП був у межах норми ($0,4736 \pm 0,0028$ г/л), та у 60% – відмічалось його зниження ($0,2539 \pm 0,0181$ г/л). При цьому у досліджуваних групах також спостерігалась зміни сіалованості та фукозильованості АГП, що залежали від характеру патологічного процесу і були більш інформативнішими, ніж визначення його концентрації у плазмі крові.

Мех. І., Калінін І.

МІДЬ ЯК БІОГЕННИЙ І ТОКСИЧНИЙ ЕЛЕМЕНТ

Національний університет біоресурсів та природокористування України

E-mail: ikalin@rambler.ru

Мідь (Суррум) – хімічний елемент першої групи періодичної системи елементів. Відомі два стійкі ізотопи і шістнадцять (з урахуванням ядерних ізомерів) ізотопів міді. Мідь – метал рожево-червоного кольору. В природі мідь зустрічається, головним чином, у вигляді сполук. Мідь важлива для всіх форм життя (Emsley J., 1991).

Мідь, як і ряд інших металів (залізо, цинк, хром, марганець, кобальт, молібден, нікель, ванадій) має велике біологічне значення, а саме відіграє каталітичну роль в регуляції біохімічних процесів, в силу чого її називають біогенним металом. Мідь як мікроелемент є постійною і необхідною частиною тканин рослинних і тваринних організмів. Мідь – одна з найважливіших складових металопротеїдів, які регулюють окисно-відновні процеси клітинного дихання, фотосинтезу, засвоєння молекулярного азоту. Оптимальні кількості міді мають стимулюючий вплив на дихання і фотосинтез, вуглеводний обмін, синтез жирів, утворення вітамінів. Мідь виконує в тканинах надзвичайно важливу роль каталізатора життєво важливих процесів, незважаючи на її низьку концентрацію (Baker A., Harvey L., 1999).

Порушення обміну міді в організмі тварин та людини, зокрема її недостатність, може стати причиною розвитку серйозних захворювань – мікроцитарна і гіпохромна анемія, захворювання нервової системи.

Завдяки своїм фізико-хімічним властивостям мідь в процесах обміну речовин займає одне з провідних місць. Потреба у міді для тварин суворо визначена і генетично детермінована. Як недостатнє, так і надмірне надходження міді призводить до порушення життєво важливих функцій.

У крові мідь знаходиться у зв'язаному з білками стані. Основною формою міді у тканинах є двовалентна мідь, яка створює найбільш міцні хелатні комплекси з білками. Головним білком, з яким комплексує мідь, є церулоплазмін, він виконує функції не лише транспортного білка, а й мідьоксидази. Виділені та вивчені також гемокупреїн, плацентокупреїн, гепатокупреїн, гемоціанін.

Процеси абсорбції міді взаємозв'язані конкурентною залежністю з цинком і кадмієм (Davies N., Campbell J., 1997).

Як токсичний метал для живого організму, мідь утворює комплекси з радикалами, в тому числі компонентами клітин, білків, амінокислот. Вона утворює міцні зв'язки з сульфгідрильними групами, інактивуючи деякі ферменти (лужну фосфатазу, амілазу, ліпазу), взаємодіє з гормонами (адреналін), впливає на концентрацію ряду вітамінів в органах і тканинах (вітаміни С, А, В) (Mercer J., 1981).

Оцінка потреби в міді та її гігієнічні нормативи неодноразово обговорювались на засіданнях ВООЗ і ФАО та пізніше Об'єднаному Комітеті експертів ФАО/ВООЗ (IPCS. Correr. FAO/WHO, 1999).

Накопичені дані про токсичність міді і її сполук для тварин і людини вказують на те, що шкідлива дія цих речовин може проявлятися при відносно невеликих рівнях доз, в зв'язку з чим

необхідно регламентувати і контролювати допустимий вміст в об'єктах зовнішнього середовища (повітря, вода, ґрунт) і промислових умовах. Випадки тяжких отруєнь тварин, а особливо людей, вказують на необхідність критичного розгляду принципів нормування міді з урахуванням, з одного боку, токсичності цього металу, а з іншого, необхідності в ньому, як біоеlementі.

Мік-Сабат М., Калачнюк Л., Барладин А., Верес Є., Калачнюк Г.

УТИЛІЗАЦІЯ $b(2 \rightarrow 1)$ - І $b(2 \rightarrow 6)$ -ФРУКТАНІВ ЗМІШАНОЮ ПОПУЛЯЦІЄЮ МІКРООРГАНІЗМІВ-СИМБІОНТІВ РУБЦЯ

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького
вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна

E-mail: lilimarg@polynet.lviv.ua

Рослинні фруктани (інуліни і флєїни з $b(2 \rightarrow 1)$ -зв'язками) мають відносно малі (до ~ 40) ступені полімеризації (Pontis H.G. et al., 1985), а бактеріальні (левани з $b(2 \rightarrow 6)$ -зв'язками) – дуже великі (>100000) (Keith J. et al., 1991). При засвоєнні організмом жуйної тварини згадані фруктани спершу перетворюються мікробною популяцією в рубці до мономерів, а далі – до кінцевих продуктів ферментації. Очевидно для кожного полімера такий процес протікає з різною швидкістю, що має суттєве значення для постачання необхідної енергії та утворення проміжних сполук, які є важливими факторами у підтриманні реакцій біосинтезу *de novo*, і передусім ефективного використання продуктів деградації білкових молекул й інших азотовмісних сполук. У зв'язку з цим особливої уваги заслуговують дослідження біологічної ролі згаданих фруктанів у процесах нагромадження азоту аміаку у рубцевому вмісті та використання його мікроорганізмами-симбіонтами (Барладин А.О. та ін., 2006, 2007)

Основною метою цієї роботи було вивчення особливостей утилізації фруктанів з $b(2 \rightarrow 1)$ - і $b(2 \rightarrow 6)$ -зв'язками змішаною популяцією мікроорганізмів-симбіонтів рубця та впливу їх на процеси аміакоутворення в присутності природного сорбенту кліноптилоліту.

Дослідження проводили в умовах *in vivo* та *in vitro*. Джерелом змішаних мікробних популяцій було вмістиме рубця, яке відбирали носостравохідним зондом від 5 баранів, що випасалися на пасовищах з райграсом і конюшиною білою (~ 1:1). Рідку частину вмістимого рубця отримували після фільтрації останнього через нейлонову матерію. Дослідження в умовах *in vitro* проводили за методикою, яка описана раніше (Калачнюк Л.Г. та ін., 2002, 2004, 2006; Барладин А.О. та ін., 2007).

Показано, що змішана популяція мікроорганізмів-симбіонтів рубця з неоднаковою швидкістю утилізує фруктани з $b(2 \rightarrow 1)$ - і $b(2 \rightarrow 6)$ -зв'язками. Інулін майже у 2 рази швидше утилізується за леван, а сахароза і фруктоза – ще швидше. Процес амонієгенезу в значній мірі залежить від швидкості деградації вуглеводів. Звідси, впродовж тривалого часу рівномірний рівень утворення аміаку підтримують інулін, леван і фруктоза, а сахароза швидко знижує його. Присутність природного сорбенту кліноптилоліту дозволяє мікроорганізмам-симбіонтам прискорити метаболізм інуліну, левану, сахарози і фруктози та вірогідно знизити рівень аміакоутворення в середовищі рубця жуйних тварин.

Моравська О., Вовк С.

ЗМІНИ РІВНЯ ПРОДУКТІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ЗАЛИШКОВОГО ЖОВТКА ЕМБРІОНІВ ЗАЛЕЖНО ВІД КІЛЬКОСТІ ВІТАМІНУ Е В РАЦІОНІ ГУСЕЙ БАТЬКІВСЬКОГО СТАДА.

Інститут землеробства і тваринництва Західного регіону України
81115, Львівська обл., Пустомитівський р-н, с.Оброшино.

Забезпечення раціонів водоплавної птиці оптимальним рівнем вітаміну Е становить значний науково-практичний інтерес, оскільки дефіцит вказаного вітаміну в раціоні у цей період веде до зменшення токоферолу в жовтку інкубаційних яєць, що викликає ембріопатію, при якій порушення розвитку ембріона настає вже через 24 години інкубації, а загибель

ембріона на 3-4-добу інкубації внаслідок патології зародка та виникнення крововиливів. [Куртяк Б.М., Янович В.Г., 2004р.], [Adamstone F.B., 1931], [Куткіна Л.Б., 2006р.]

Разом з тим слід зауважити, що на даний час в науковій літературі мало даних щодо впливу токоферолу на процеси перекисного окиснення ліпідів в організмі і окремих тканинах пташиних ембріонів [Куткіна Л.Б., 2006]

Виходячи з цього, метою даної роботи було порівняльне дослідження впливу різного рівня вітаміну Е в раціоні племінних гусей у репродуктивний період на рівень продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у жовтку яєць та залишковому жовтку 25-денних ембріонів.

Дослідження проводили на чотирьох групах гусей сірої оброшинської породи – аналогів за віком і живою масою. Упродовж 90-добового дослідного періоду гуси 1-ї (контрольної) групи отримували комбікорм ПК-33-3-89, який був збалансований за усіма елементами живлення згідно рекомендованих норм [Я.І.Кирилів, І.Б.Ратич, 2004]. До комбікорму гусей 2-ї, 3-ї та 4-ї дослідних груп на 100 кг комбікорму вводили вітамін Е у кількості відповідно 2500 МО, 3500 МО і 4500 МО.

В дослідженнях використовували „Мікровіт”[™] Е Промікс 50 французької фірми „Adisseo” у вигляді добавки до комбікорму з ретельним їх змішуванням.

В результаті досліджень нами встановлено, що в жовтках яєць гусей та в жовткових мішках ембріонів дослідних груп значно зменшився вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів. А саме, вміст дієнових кон’югатів в жовтках яєць гусей дослідних груп порівняно з контрольною був на 8,53%, 15,7% та 12,56%, гідроперекисів ліпідів на 17,87%, 39,35%, 32,79%, а малонового діальдегіду на 12,07%, 15,28% та 14,71% нижчим. Також нами показано зменшення вмісту продуктів ПОЛ в жовтковому мішку 25-добових ембріонів отриманих від інкубаційних яєць дослідних груп гусей, а саме вміст дієнових кон’югатів у залишковому жовтку ембріонів 2-ї, 3-ї, 4-ї дослідних груп зменшився відповідно на 9,75%, 19,0%, 15,29%, вміст гідроперекисів ліпідів зменшився на 20,36%, 33,94%, 28,51%, а вміст малонового діальдегіду на 24,18%, 34,13%, 31,61% порівняно до ембріонів контрольної групи.

Наведені дані свідчать про те, що найбільше зменшення продуктів ПОЛ у жовтку гусей і залишковому жовтку ембріонів спостерігається в другій дослідній групі, де вміст вітаміну Е в раціоні становив 35 МО на 1кг комбікорму.

Отже, підсумовуючи отриманні нами результати, слід відзначити, що додавання вітаміну Е до основного раціону гусей в репродуктивний період у вказаних кількостях зменшує вміст ПОЛ у жовтку яєць гусей та залишковому жовтку ембріонів, стимулює несучість та істотно підвищує виводимість гусенят. Оптимальний метаболічний і продуктивний ефект встановлено при введенні до раціону гусей 35 МО вітаміну Е на кг комбікорму.

Моргулець Л., Семчишин Г.

БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ДРІЖДЖІВ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*, ВИРОЩЕНИХ НА ГЛЮКОЗІ ТА ФРУКТОЗІ

Прикарпатський національний університет ім. Василя Стефаника

вул. Шевченка, 57, м. Івано-Франківськ, 76025, Україна

E-mail: semchyshyn@pu.if.ua

Вуглеводи є одними з основних учасників енергетичного обміну клітин. Це пов’язане з тим, що вони є доступними природними субстратами, швидко включаються в катаболізм та беруть участь в регуляції метаболічних процесів. З іншого боку, вуглеводи та продукти їхнього розпаду можуть негативно впливати на процеси, що відбуваються в клітинах. Наприклад, відомо, що глюкоза може здійснювати неферментативне глікозилювання білків та ДНК. Введення у дієту ссавців високих концентрацій фруктози може призводити до розвитку цукрового діабету, появи надмірної ваги тощо. Метою роботи було дослідження біохімічних особливостей одноклітинних еукаріотів дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* протягом їхнього росту на глюкозі та фруктозі.

В дослідженнях використовували штам *S. cerevisiae* YPH250 (дикий тип, МАТа *trp1-Δ1*, *his3-D200*, *lys2-Δ1*, *ade2-101*, *ura3-52* *leu2-Δ1*). Дріжджі вирощували за умов аерації при 28°C у середовищі, яке містило 0,5%, 2% і 4% глюкозу або фруктозу, 2% ферментативний пептон та 1% дріжджовий екстракт. Для досліджень дріжджі відбирали на 14 год, 1-шу, 3-тю та 5-ту доби культивування. Активність ферментів та концентрацію карбонільних груп білків визначали спектрофотометричним методом. Метаболічну активність визначали за допомогою барвника 2,3,5-трифенілтетразолію хлориду (ТТС).

Показано, що метаболічна активність дріжджів, які росли як на глюкозі, так і фруктозі, зменшувалась, а рівень карбонільних груп білків достовірно зростав з часом культивування. Слід зауважити, що вміст продуктів окисної модифікації білків, який вважається маркером оксидативного стресу, був вищим у клітинах дріжджів, які росли на фруктозі, незалежно від часу росту культур та концентрації використовуваних вуглеводів. Активність супероксиддисмутази, глутатіонредуктази та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази у дріжджів, вирощених на фруктозі також була вищою. Отже, результати можуть свідчити про вищий рівень окисних процесів в клітинах, що культивуються на фруктозі, ніж у дріжджів, вирощених на глюкозі.

Навитка С.

ПРОТЕОЛІТИЧНА АКТИВНІСТЬ КЛІТИН ЛІМФОМИ NK/LY, ОЧИСТКА, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ І БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ПРОТЕЇНАЗОВІСНИХ ФРАКЦІЙ

Львівський національний університет імені Івана Франка

Інститут біології клітини НАН України

вул. Драгоманова 14/16, м. Львів, 79005

Пухлинні клітини продукують протеолітичні ферменти, роль яких особливо помітна на кінцевих стадіях розвитку пухлин. Протеолітичні ферменти призводять до деградації екстрацелюлярного матриксу, що сприяє інвазивному росту пухлин, проникненню клітин у кровеносні судини, метастазуванню, а також ангіогенезу. У нормальних клітинах активність протеїназ перебуває під контролем ендогенних інгібіторів. Особливістю пухлинного процесу є порушення рівноваги між активністю протеїназ та їх інгібіторів на користь перших.

Метою даної роботи було дослідити протеолітичну активність лізатів клітин асцитної лімфоми NK/Ly на термінальних стадіях росту експериментальної пухлини, провести фракціонування білків лізату і охарактеризувати протеолітичну активність отриманих фракцій.

Протеолітична активність, яка виявляється при рН – 5,4 та 8,0 у лізатах клітин лімфоми NK/Ly, становила відповідно 26,3 та 15,0 мкг казеїну/мг білка•год. Фракціонування лізатів клітин лімфоми NK/Ly проводили шляхом висолювання сульфатом амонію. Отримали три фракції: імуноглобулінову (40% насичення сульфатом амонію), альбумінову (55% насичення сульфатом амонію, рН 4,7) і постальбумінову (100% насичення, рН 6,0). Найвища питома активність протеїназ при рН 5,4 та 8,0 була виявлена у постальбуміновій фракції. Низьку протеолітичну активність виявили у альбуміновій фракції, дещо вищу – у імуноглобуліновій фракції.

З допомогою методу диск-електрофорезу постальбумінової фракції в тріс-гліциновій системі (рН 8,9) було виявлено, що біля 75 % білка припадає на альбумін. Останній є білковою домішкою, яка знижує питому протеолітичну активність препаратів..

Досліджували вплив інгібіторів протеолізу (трасилолу, йодацетаміду, альфа-2 макроглобуліну) на активність протеїназ постальбумінової фракції. Вказані інгібітори не впливали на протеолітичну активність лізатів клітин NK/Ly і постальбумінової фракції. Разом з тим трасилол повністю інгібував активність трипсину у контролі.

Проведено часткову очистку протеїназ клітин лімфоми NK/Ly фракційним висолюванням сульфатом амонію їх концентрування у постальбуміновій фракції. Для більш детального дослідження біологічної активності протеїназ постальбумінової фракції необхідно провести видалення альбуміну з допомогою методом афінної хроматографії або імунопреципітації антитілами

проти білків сироватки крові миші. З цієї метою отримано антитіла до білків сироватки крові миші, які плануємо використати для очистки протеїназ постальбумінової фракції.

Остролуцька К., Тупицька О.

**ОСОБЛИВОСТІ БІОХІМІЧНОГО СКЛАДУ БІЧНОГО
ПОВЕРХНЕВОГО М'ЯЗУ У КОСТИСТИХ ГАНОЇДІВ**

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: olgatup@mail.ru

Хімічний склад м'язів у риб, які належать до однієї родини, роду і навіть виду змінюється в значних межах, що очевидно пов'язано з особливостями фізіологічного призначення окремих груп м'язів у організмі та від багатьох причин біологічного характеру.

Бічний поверхневий м'яз (бура мускулатура, буре м'ясо) у морських пелагічних костистих риб, розташований уздовж бічної лінії; найтовща частина м'яза розташована в середині тіла; до голови і хвоста м'яз стоншується. У більшості видів бічний м'яз виразно сепарований від міотомів, а у деяких видів (меч-риба, марліни і ін.) він вростає в світлу мускулатуру і важко від неї відділяється навіть після варіння, коли зв'язок бурого м'яса з міосептами слабшає за рахунок гідролізу білків сполучної тканини.

Зміна маси бічного поверхневого м'яза залежить від виду риб і змінюється в межах від 4,5% (у мечоносців) до 34% (у анчоусів) від загальної маси м'язів.

У пелагічних костистих морських риб (анчоус, сардина, сайра, оселедець, скумбрія, тунець і т. д.) бура мускулатура в порівнянні з світлою має ряд біохімічних особливостей. Бура мускулатура, як правило, містить менше азоту, але багатша ліпідами. У риб, що належать до одного виду, ізоелектрична точка білків бурого м'яза зсунута в більш кислу зону.

У морських пелагічних риб (оселедець, скумбрія, сардина) в білках бурого м'яза в порівнянні з білками світлих м'язів у 2-2,5 рази більше моноамінокислот і в 2-3 рази менше азоту діамінокислот. У білках бурих м'язів міститься більше гліцину, проліну, фенілаланіну, тирозину, метіоніну і менше серину, цистину, лізину, аспарагінової і глутамінової кислот. У деяких видів існують інші співвідношення, очевидно, вони відображають біохімічні особливості виду. Амінокислотний склад білків бурого м'яза більш непостійний, ніж білків світлих м'язів.

У бурих м'язах міститься дещо більше нуклеотидів, ніж у світлих.

Біологічною особливістю бурого м'яза є присутність у ній більш активного комплексу тканинних ферментів, причому в порівнянні з ферментним комплексом тканин світлих м'язів, у тканинах бурих м'язів присутні більш активні окиснювальні і протеолітичні ферменти. Через це в бурій мускулатурі енергійніше розвиваються посмертні автолітичні процеси.

У бездоганно свіжих пелагічних морських костистих риб у бурій мускулатурі міститься набагато менше креатину і креатиніну, ніж у світлих, проте набагато вищий вміст триметиламіна (на 41%), триметиламіноксида (на 28%), холіна (на 68%), лецитина (на 80%) і кефаліна (на 28%).

У складі лецитина і кефаліна, які містяться в бурій мускулатурі, присутні більш ненасичені жирні кислоти, ніж у фосфатідах, що містяться в звичайній мускулатурі. Ліпіди бурого м'яза містять більше ненасичених з'єднань, ніж ліпіди, присутні в світлих м'язах.

У деяких видів риб у складі неомиленої фракції ліпідів бурого м'яза значно більше провітаміна D і холестерина.

Ця залежність не у всіх видів риб виявляється виразно.

Світла і бура мускулатура істотно розрізняються і за вмістом водорозчинних вітамінів.

Біохімічні особливості складу бурого м'яза свідчать про те, що в ньому протікають активні біологічні процеси і, перш за все, процеси біологічного окиснення.

Охріменко Л., Туницька О.

РОЗПОДІЛ І НАКОПИЧЕННЯ ВІТАМІНУ А В ТКАНИНАХ ГІДРОБІОНТІВ

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: olgatur@mail.ru

Багато видів морських риб, ластоногих і китоподібних накопичують велику кількість вітаміну А, який бере участь у процесах білкового обміну і в багатьох окисно-відновних реакціях.

У тканинах організму вітамін А накопичується вибірково, наприклад у пластинчатозябрових майже весь вітамін А зосереджується в печінці. У морських костистих риб основна частина запасу вітаміну А знаходиться в м'язах, шлунку і кишечнику, а у прісноводних костистих у печінці, кишечнику, шлунку. Ці відмінності в розподілі вітамінів відображають біохімічні особливості ліпідного обміну в окремих видів риб. У деяких костистих морських риб установлений підвищений вміст вітаміну А в пігментованих тканинах шкірного покриву. Наприклад, вміст вітаміну А в 1 г ліпідів шкіри досягає 30-35 м. о., а у 1 г ліпідів м'яса – 9-10 м. о. У камбал ліпіди темної шкіри містять 80-240 м. о. вітаміну А, світлої шкіри – 30-100, а ліпіди м'яса – 15-95 м. о. вітаміну А в 1 г. Очевидно це пов'язано з тим, що вітамін А необхідний для синтезу хромопластів.

Установлено, що вміст вітаміну А в м'язах залежить від їх розташування в тілі. Так, у міног м'ясо в приголовній частині багатше вітаміном А, ніж у хвостовій частині (1910-9950 і 280-1690 м. о./г відповідно). Це пов'язано з тим, що в тканинах приголовної частини локалізуються ліпіди з вищим вмістом вітаміну А. У багатьох видів костистих риб (сайра, скумбрія, камбали, кета) в тканинах бурої мускулатури міститься, як правило, більше вітаміну А, ніж у світлих м'язах (55-120 і 20-95 м. о. на 100 г маси відповідно). Проте для акул відмічена протилежна залежність: світлі м'язи містять більше вітаміну А, ніж бурі.

Вміст вітаміну А в м'ясі зростає зі збільшенням віку риби. Наприклад, якщо в 1 г м'яса дорослої міноги міститься 100-980 м. о. вітаміну А, то в тканинах тіла мальків – не більше 15 м. о.

Найбільш значна концентрація вітаміну А виявлена в печінці. Його вміст змінюється залежно від виду риб, маси особин, району мешкання. Установлено, що у риб одного виду, які мешкають у різних широтах, вміст вітаміну А в печінкових ліпідах у північних широтах більший, ніж у південних, причому він зростає по мірі просування району мешкання виду з півдня на північ. У холодолюбивих камбал у печінкових ліпідах накопичується більше вітаміну А, ніж у теплолюбивих видів (1200-16700 і 500-2300 м. о. відповідно). Серед холодолюбивих видів найбільш високий вміст вітаміну А виявлено в печінці зірчастої камбали, а серед теплолюбивих – у печінці гостроголової камбали. Значні коливання вмісту вітаміну А виявляються і в тканинах шлунка і кишечника, причому у всіх випадках вітаміна А накопичується в тканинах цих органів значно менше, ніж у печінці.

Підвищений вміст вітаміну А в тканинах багатьох видів риб і морських тварин біологічно необхідний у цілях посилення функцій зорового апарату і стійкості організмів до дії специфічних умов їх проживання в гідросфері (знижена температура і освітленість, низький кисневий рівень, гідростатичний тиск).

Павликівський І., Бурак Н., Байляк М.

**ВПЛИВ ПРЕПАРАТІВ РОДІОЛИ РОЖЕВОЇ НА АКТИВНОСТІ АНТИОКСИДАНТНИХ
ФЕРМЕНТІВ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника

вул. Шевченка 57, м. Івано-Франківськ, 76025, Україна

E-mail: bayliak@ukr.net

Здатність екстрактів певних лікарських рослин збільшувати тривалість життя стала предметом останніх років предметом активного вивчення. Відомо, що біологічно активними речовинами лікарських рослин, в основному, є поліфеноли та глікозиди. Серед можливих ефектів цих речовин на організм була показана їхня антиоксидантна дія. Проте майже всі ці сполуки

не тільки є антиоксидантами, але здатні стимулювати систему антиоксидантного захисту організму. Така стимуляція вважається одним з механізмів сповільнення старіння, а також лежить в основі стійкості організму до різних стресових впливів. Метою даної роботи було дослідити вплив препаратів родіоли рожевої (*Rhodiola rosea* L.), для якої добре відомі адаптогенні властивості, на активності антиоксидантних ферментів пекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* протягом росту культури.

У дослідженні використовували штам *S. cerevisiae* YPH250 (дикий тип, *MATa trp1-Δ1 his3-Δ200 lys2-801 leu2-Δ1 ade2-101 ura3-52*). Дріжджі культивували при 28°C за умов аерації в живильному середовищі, яке містило 2% глюкози, 2% пептону, 1% дріжджового екстракту і 0,5% спиртового препарату з кореневища *R. rosea*, приготовленого на 40%-му етанолі у співвідношенні 1:5 (кореневище родіоли рожевої: етанол). Як контроль використовували культуру дріжджів, яка замість спиртового препарату *R. rosea* містила відповідну кількість 40%-го етанолу. Для досліджень клітини дріжджів відбирали на 3-ту, 11-ту і 19-ту добу культивування. Активність антиоксидантних ферментів – каталази і супероксиддисмутази (СОД) визначали в екстрактах зруйнованих клітин спектрофотометричними методами.

Активність каталази була подібною у клітинах штаму YPH250, які росли як без, так і в присутності препаратів родіоли рожевої, і несуттєво змінювалася до 11-ї доби культивування. На 19-ту добу росту активність каталази у клітинах з контрольних культур знижувалась і становила приблизно половину від такої у клітин, культивованих з препаратами родіоли рожевої. У той же час активність СОД у клітинах даних культур суттєво відрізнялася протягом періоду культивування. У клітинах, які росли у присутності препарату з кореневища *R. rosea*, активність СОД була нижчою на 3-ту добу росту, порівняно з контрольним варіантом. Протягом наступних діб (до 19-ї доби росту) активність СОД у клітинах, в середовище культивування яких вносили препарат кореневища родіоли рожевої, зростала і залишалася вищою, ніж в контролі. У клітинах з контрольних культур активність СОД була максимальною на 3-ту добу росту і зменшувалася при подальшому культивуванні. Водночас, життєздатність клітин, відібраних з контрольних культур на пізніх стадіях росту, була нижчою, ніж життєздатність клітин, вирощених у присутності спиртових препаратів *R. rosea*. Відомо, що СОД відіграє ключову роль у забезпеченні виживання дріжджів *S. cerevisiae* на стаціонарній фазі росту, тому позитивний ефект препарату родіоли рожевої на тривалість життя клітин *S. cerevisiae* може бути пов'язаний зі збільшенням активності СОД. Разом з тим суттєве зниження рівня виживання дріжджів з контрольних культур на пізніх стадіях культивування може бути зумовлене зменшенням активності даного антиоксидантного ферменту у клітинах.

Паливода К.^{1,2}, Самойленко А.²

**ДОСЛІДЖЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ ТИМОЦИТІВ ТА Т-ЛІМФОМНИХ КЛІТИН
ЛІНІЇ JURKAT ДО ДІЇ АПОПТОГЕННИХ ЧИННИКІВ**

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка

²Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

E-mail: zuav@ukr.net

Обґрунтування та завдання: Останнім часом активно розвивається напрямок, пов'язаний зі з'ясуванням біохімічних механізмів запрограмованої смерті нормальних та трансформованих клітин та пошуку шляхів ефективного пригнічення проліферації пухлинних клітин. Індукція апоптозу, опосередкована активацією каспазного каскаду відіграє важливу роль у реалізації цитотоксичної дії більшості протипухлинних препаратів, зокрема тих, які застосовуються для лікування такого широкого класу онкозахворювань, як лейкомії. Ефект протипухлинних препаратів найчастіше реалізується шляхом безпосереднього впливу на різні ланки передачі апоптичних сигналів: блокування активності рецепторних білків, пригнічення активності цитоплазматичних тирозинових протеїнкіназ, зміна експресії генів-регуляторів апоптозу. Водночас, внесок цих механізмів до антипухлинної активності різних агентів до теперішнього часу залишається мало дослідженим. Основним виконавчим ензимом сигнальних каскадів

апоптозу є каспаза-3. Каспаза-3 синтезується у клітинах у вигляді неактивного попередника (35 кДа), який зазнає протеолізу з утворенням двох фрагментів (17 і 19 кДа), набуваючи, таким чином, каталітичної активності.

У багатьох випадках пухлинні клітини уникають апоптозу внаслідок активації антиапоптичних механізмів, тоді як нормальні клітини зазнають пошкодження. Тому важливим для розробки хіміотерапевтичних засобів є врахування відмінностей між пухлинними і нормальними клітинами та пошук шляхів вибіркового модулювання їх загибелі чи виживання. Метою дослідження був порівняльний аналіз життєздатності та активації каспази-3 в нормальних та онкотрансформованих Т-клітинах за апоптозу, індукованого чинниками, що діють за різними механізмами.

Матеріали і методи: Дослідження проводили на клітинах двох типів – первинній культурі нормальних тимоцитів щура і клітинах лімфоми людини лінії Jurkat. У роботі було використано такі індуктори апоптичної загибелі: пероксид водню (H_2O_2), стауроспорин (STS) та цитозинарабінозид (Ага-С). Життєздатність клітин оцінювали за активністю електрон-транспортного ланцюга, яку визначали за допомогою МТТ-тесту. Активовану форму каспази-3 у клітинних лізатах детектували Вестерн-блот аналізом.

Результати: H_2O_2 через 24 год інкубації ефективніше знижував життєздатність тимоцитів, ніж клітин Jurkat. При інкубації тимоцитів з 25 μM H_2O_2 активована форма каспази-3 детектується вже на 4 год, тоді як активація каспази-3 в клітинах Jurkat спостерігалась лише при збільшенні концентрації H_2O_2 до 50 μM .

За оцінкою життєздатності чутливішими до дії STS виявились клітини Jurkat. Через 24 год інкубації з 1 mM STS виживало лише 10% клітин. При цьому активація каспази-3 в клітинах Jurkat відбувалась пізніше (через 4 год) у порівнянні з тимоцитами, для яких вже через 1 год після інкубації з 0,1 μM STS виявлялась субодиниця каспази-3 з молекулярною масою 17 кДа.

До дії Ага-С (24 год інкубації) як тимоцити, так і клітини Jurkat є однаково чутливими. Їх життєздатність за наявності 10 mM Ага-С знижувалась на 45 ± 4 та $51 \pm 1\%$ відповідно. В клітинах Jurkat через 4 год після індукції апоптозу Ага-С вміст обох активних субодиниць каспази-3 був значно вищим, ніж в тимоцитах.

Висновки: Виявлено відмінності у чутливості нормальних та трансформованих Т-клітин до дії різних апоптогенних чинників. Найбільш чутливими до дії H_2O_2 виявляються нормальні Т-клітини. Клітини Jurkat проявляють високу чутливість до STS, хоча каспаза-3 активується в тимоцитах за дії STS раніше. Ага-С з однаковою ефективністю викликає загибель як онкотрансформованих, так і нормальних Т-клітин. Результати проведених досліджень є важливими для розробки фармакологічних чинників, здатних вибірково індукувати апоптоз трансформованих клітин.

Парамонова К., Жулай В.

**ДОСЛІДЖЕННЯ ПОКАЗНИКІВ КИСЛОТНО-ЛУЖНОГО СТАНУ ТА ОКСИГЕНАЦІЇ
ОРГАНІЗМУ КРОЛІВ, АНЕСТЕЗОВАНИХ ТРАДИЦІЙНИМИ МЕТОДАМИ
ТА З ВИКОРИСТАННЯМ ФАКТОРІВ ШТУЧНОГО ГІПОБІОЗУ**

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: VitaliyZhulay@twin.nauu.kiev.ua

Більшість біохімічних показників у тварин, що перебувають у гіпобіотичному стані та після виходу з нього відрізняються від цих же показників інтактних тварин.

Нами було проведено дослідження кислотно-лужного стану та оксигенації організму кролів, що перебували у стані штучного гіпобіозу за допомогою аналізатора рН і газів крові "Gastat – 601".

Нами було виявлено, що тварини дослідної групи особливо сильно відрізнялися від контролю за парціальною напругою вуглекислого газу в крові та зсувом буферних основ, що є характерним для вуглекислотного гіпобіозу і узгоджується з літературними даними.

Показники тварин, що знаходилися під впливом медикаментозної анестезії відрізнялися від таких показників обох інших груп тварин (гіпобіоз та контроль), що можна пояснити відмінностями механізмів гіпобіотичної та медикаментозної анестезії.

Різде зниження рН крові у кролів при введенні їх у гіпобіотичних стан було обумовлене, на нашу думку, дією вуглекислого газу вдихуваної газової суміші.

При введенні кролів у гіпобіоз $p\text{CO}_2$ у їх крові зростала на 300%, що є цілком закономірним, узгоджується з літературними даними і обумовлено надходженням CO_2 із вдихуваної газової суміші та є одним з необхідних гіпобіотичних факторів. У медикаментозно анестезованих кролів підвищення $p\text{CO}_2$ відбувалося значно менше: приблизно на 25%, але обумовлене воно зовсім іншою причиною – гальмуванням зовнішнього газообміну внаслідок пригнічення дихального центру.

Підвищення $p\text{O}_2$ на 60% у крові кролів при введенні їх у гіпобіоз було обумовлене передусім високим вмістом O_2 у вдихуваній газовій суміші та зменшенням споживання кисню під гальмівним впливом гіпобіотичних факторів на метаболічні процеси. У медикаментозно анестезованих кролів, навпаки, спостерігалось зменшення $p\text{O}_2$ майже на 20%, а у післяопераційний період – майже на 40%, що є, на нашу думку, суттєвим недоліком цього способу і може іноді призводити до негативних наслідків.

Слід також звернути увагу на те, що загальна концентрація кисню і насиченість ним крові у кролів введених в стан гіпобіозу була дещо меншою, ніж у контролі, хоча $p\text{O}_2$ у крові цих тварин був набагато більшим, ніж у контролі. Останнє пояснюється зниженням спорідненості гемоглобіну до кисню при зниженні рН.

Оскільки у кролів у стані гіпобіозу показник рН був значно нижчим, ніж у медикаментозно анестезованих, а загальна концентрація кисню і насиченість ним крові, навпаки, були більшими, то це підтверджує відмінність порівнюваних способів анестезії та свідчить на користь вуглекислотного гіпобіозу.

В обох дослідних групах актуальний і стандартний зсуви буферних основ крові були негативними, але відрізнялися за величиною, швидкістю нормалізації протягом доби і, ймовірно, за хімічною природою.

Так у кролів, яких вводили у вуглекислотно-гіпобіотичний стан стандартна і актуальна нестача буферних основ сягала майже 550 – 900 % відповідно, а у тварин медикаментозно анестезованих – близько 400%.

Отже, дослідження кислотно-лужного стану та оксигенації організму кролів за допомогою аналізатора рН і газів крові “Gastat – 601” показали, що застосування гіпобіотичної та медикаментозної анестезії призводить до ряду змін у їх організмі, які, в основному знаходять пояснення і узгоджуються з літературними даними.

Перетятко Ю., Чупа М., Сибірна Н.

ОСОБЛИВОСТІ МЕТАБОЛІЗМУ L-АРГІНІНУ У ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОГО РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ

Львівський національний університет імені Івана Франка

Вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

E-mail: yulia.peretyatko@gmail.com

Відомо, що гематолімфоїдна система є дуже чутливою до впливу рентгенівського випромінювання, яке може порушувати функції імункомпетентних клітин. Радіаційно-індуковані зміни в системі імунітету складають патогенетичну основу розвитку аутоінфекційних та аутоімунних процесів, оскільки опромінення призводить до зниження кількості імункомпетентних клітин, і в першу чергу – лімфоцитів.

У випадку дії іонізуючого випромінювання низької інтенсивності особливого значення набувають процеси, пов'язані з утворенням активних метаболітів Оксигену (АМО), оскільки вони за високих концентрацій можуть модифікувати біомолекули і призводити до деструктивних змін у клітині аж до її загибелі. До АМО відносять оксид азоту (NO), який синтезується

ендогенно з L-аргініну трьома ізоформами синтази оксиду азоту (NOS). Одним із можливих механізмів зниження синтезу NO є зменшення клітинного пулу субстрату NOS – L-аргініну. Це може бути наслідком порушення надходження даної амінокислоти в клітину, або активації аргінази (ARG), ензиму, здатного опосередковувати інгібуючий вплив на активність NOS, чим безпосередньо регулює синтез NO.

Тому метою нашої роботи було дослідити вміст вільного L-аргініну в плазмі крові і активність ферментів NO-синтазного та аргіназного шляхів перетворення аргініну у лейкоцитах периферичної крові щурів у нормі та за дії рентгенівського випромінювання на фоні введення *per os* L-аргініну та L-NAME, (неселективного інгібітора NO-синтази).

Показано, що за умов дії рентгенівського випромінювання концентрація вільного L-аргініну в плазмі крові на 10 добу опромінення зростає порівняно з показами контрольних тварин у 4 рази, проте на 20 та 30 доби спостерігається поступове зниження досліджуваного показника. Введення екзогенного L-аргініну контрольним та опроміненим щурам викликало однонаправлені зміни – концентрація даної амінокислоти зростала у плазмі крові як контрольних, так і опромінених тварин.

За умов опромінення спостерігається зростання активності NOS на 10, 20, 30 доби експерименту порівняно з контролем, в той час як активність аргінази знижується. Оскільки клітинна продукція NO у лейкоцитах повністю залежить від наявності аргініну, то очевидно, що зростання активності NOS при опроміненні пов'язане зі збільшенням концентрації субстрату даного ферменту.

Введення екзогенного L-аргініну контрольним щурам супроводжувалося зниженням активності NOS на 10, 20 та 30 доби експерименту та незначним зниженням аргінази порівняно до контрольних показників. Введення екзогенного L-аргініну за умов опромінення призводить до різноспрямованих змін активностей досліджуваних ферментів на 10 добу порівняно до контрольних показів: активність NOS зростає у 1,6 рази, а аргінази знижується у 1,2 рази. На 20 та 30 доби експерименту спостерігається вирівнювання кривої, що ілюструє активність NOS, а аргінази залишалася в межах показів для тварин, що зазнали лише опромінення. Отже, у перші 10 днів введення L-аргініну при опроміненні у лейкоцитах активується окисний шлях претворення аргініну.

У контролі за дії L-NAME концентрація вільного L-аргініну в плазмі крові зростала на 10, 20 та 30 доби введення, а при опроміненні залишається в межах показів опромінених тварин. Динаміка змін активностей ферментів метаболізму L-аргініну при введенні L-NAME контрольним та опроміненим тваринам мала однаково спрямованість – активність NO-синтази та аргінази на 10, 20, 30 доби знижувалася порівняно до показників контролю та опромінення.

Показано, що як L-аргінін – основний субстрат NO-синтази та аргінази, так і L-NAME – неселективний інгібітор NO-синтази мали позитивний коригуючий вплив у плані зниження надпродукції оксиду азоту за умов хронічного рентгенівського опромінення.

Плех Н., Тупицька О.

БІОХІМІЯ ПОКРИВНИХ ТКАНИН РІЗНИХ ВИДІВ ГІДРОБІОНТІВ

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: olgatur@mail.ru

Хімічний склад шкіри гідробіонтів має специфічні особливості, що відрізняють її від шкіри теплокровних тварин. У риб зовнішня поверхня шкіри утворена багатошаровим, але тонким (0,2-0,5 мм) епітелієм, під яким знаходиться власне шкіра. У вусатих китів тіло покрите епідермісом (5-6 мм) і досить товстим (0,3-0,5 мм) роговим шаром. Тіло кашалотів покрите тонким (до 0,1 мм) роговим епітелієм, під яким розташований чорний мальпігіїв шар (8-9 мм). Сосочковий шар коріума, розташований під епідермісом, у вусатих китів тонкий, утворений переплетеною сіткою пучків колагенових волокон і активно насичений ліпідами. У кашалотів сосочковий шар більш щільний і складається з довгих (4-7 мм) сосочків, які пронизують епітеліальний шар. У косаток шкура покрита товстим (5-6 мм), але дуже рихлим епідермісом. У чорних дельфінів епідерміс має товщину 2-3 мм, а у білухи він дуже розвине-

ний і досягає товщини 12-20 мм, маса цього шару складає 15-17% маси тіла. Основною складовою частиною тканини епітелію є білок, ліпідів вона містить мало. Для епідермісу характерна наявність поверхневого шару ороговілих клітин, що складаються з кератину.

Розташований під епідермісом шар кутісу переходить у підшкірножировий шар. У риба шар кутісу дуже тонкий і має рихлу будову, у тюленів він досягає товщини 3-5 мм (у моржів до 15-20 мм), у кашалотів шар кутісу дуже виражений, а у вусатих китів він дуже тонкий. Маса шару кутіса у гідробіонтів змінюється від 2 до 13% маси тіла. Тканини шкіри мають досить різноманітний хімічний склад. Жири, які входять до складу шкіри, за своїми фізичними властивостями і хімічними показниками тотожні депозитним жирам. Білки шару коріуму складаються з проколагену, колагену (66-95%), еластину (1,2-4,5%), альбуміноїдів, муцинів, мукополісахаридів.

У гідробіонтів за життя на поверхні тіла утворюється слиз, що відіграє важливу біологічну роль. У риба слиз виділяється системою слизовидільних клітин, розташуваних у товщі епітелію. У риба, що мають добре розвинену луску (оселедець, сардина, тихоокеанські лососі і ін.) слизу виділяється мало, у риба з сильно редукованою лускою (мінога, миксина, сом, деякі види камбал і ін.) виділяється багато слизу. Слиз складається з 85-90% води і 10-15% сухої речовини. На відміну від сухої речовини слизу наземних тварин, яка майже цілком складається з глікопротеїду муцину, суха речовина слизу риба складається з нуклеопроетидів (60-75%), що містять сірку і фосфор, ліпідів – холестерину, ліпофосфатидів (15-25%) і мінеральних солей (10-15%). У складі білків слизу знайдено 18 індивідуальних амінокислот, причому білки слизу відрізняються від білків м'язів більш високим вмістом аргініну, гліцину і лізину, разом з цим у білках слизу набагато менше лейцину, ізолейцину, метіоніну, фенілаланіну, гістидину, глутамінової кислоти, тирозину і помітно менше валіну, треоніну, аланіну, серину і проліну. В той же час у різних груп гідробіонтів білки слизу мають специфічний склад амінокислот. Забарвлення тіла створюється пігментними клітинами хроматофорами, два шари яких розташовані в коріумі.

У справжніх риба обов'язковим елементом покриву тіла є луска, яка залежно від виду риби може бути від мікроскопічно дрібної (угрі) до великої за розмірами (дзеркальний короп). Маса луски у різних видів риба змінюється в межах від 0,24 до 9,7% маси тіла, причому у морських пелагічних видів вона складає 0,25-2,8% маси тіла, а у прісноводних корошових – 1,6-9,7%, Серед морських риба найлегшу луску (0,25-0,5% маси тіла) мають тихоокеанські лососі, а серед корошових найбільшу луску мають карась (6,2-9,7%), лящ (3,1- 6,2%) і сазан (2,4-5,4%). Циклоїдна луска містить 30,9-66,5% води, 0,4-2,0% ліпідів, 2,4-5,3% азоту і 15,2-29,3% мінеральних речовин.

Пономарьова О., Шепельова І.

ОНТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ВМІСТУ ВІЛЬНИХ АМІНОКИСЛОТ У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: iryna-sh@yandex.ru

Для оцінки функціонального стану печінки провідна роль належить вивченню вмісту амінокислот і білкових компонентів. Це обумовлено тим, що біохімічні та функціональні зміни печінки насамперед впливають на її протеїнсинтетичну функцію, що, в свою чергу, призводить до змін кількісних та якісних характеристик амінокислотного спектра в цьому органі (Мищенко В.П., Тимофеева С.В., 1999).

Біологічна роль вільних амінокислот є надзвичайно різноманітною. В процесах тканинного метаболізму амінокислоти використовуються для біосинтезу білків, пуринових і піримідинових нуклеотидів, порфіринів тощо (Передерий В.Г., 1993). Вільні амінокислоти, насамперед, незамінні, є джерелом для синтезу білка в паренхіматозних клітинах печінки.

Метою нашої роботи було дослідити онтогенетичні особливості вмісту вільних амінокислот у печінці щурів.

Досліди проведено на щурах трьох вікових груп: 3-місячного віку (період статевого дозрівання; молоді), 6-місячного віку (період статевої зрілості, дорослі) і 18-місячного віку (період старості; старі).

Визначення якісних і кількісних характеристик вільних амінокислот у зразках печінки проводилося методом рідинної іонообмінної хроматографії (Козаренко Т.Д., 1975) на амінокислотному аналізаторі ААА Т-339 М фірми "Мікротехна" (Чехія).

При встановленні якісного складу вільних амінокислот у печінці щурів різного віку виявлено такі амінокислоти: аланін, аргінін, аспарагінова кислота, валін, гістидин, гліцин, глютамінова кислота, ізолейцин, лейцин, лізин, метіонін, пролін, серин, тирозин, треонін, триптофан, фенілаланін, цистин, але в кількісному відношенні вони мають свої особливості.

Порівняльний аналіз концентрації вільних амінокислот у крові щурів 3-х вікових груп свідчить про поступове зменшення метаболічного пулу вільних амінокислот з віком. У щурів 3-, 6- і 18-місячного віку вміст вільних амінокислот у печінці становить $3866,41 \pm 120,23$ мкг/г, $3046,14 \pm 197,47$ мкг/г, $2670,95 \pm 180,80$ мкг/г відповідно. Відмічено зменшення вмісту вільних амінокислот у печінці дорослих щурів на 21,2 %, а у старих - на 30,9 % відносно відповідних показників у печінці молодих щурів.

Слід відзначити, що в печінці з віком зменшується загальний вміст як замінних, так і незамінних вільних амінокислот. Так, вміст замінних і незамінних вільних амінокислот у печінці дорослих щурів знижується на 15,6 і 36,1 %, а у старих – на 23,7 і 50,1 % відповідно відносно цих показників у печінці молодих щурів.

Такий характер кількісних змін амінокислотного складу печінки у щурів 6- і 18-місячного віку, можливо, пов'язаний з підвищеною деструкцією білкових молекул за умов посилення катаболізму, пригніченням інтенсивності процесів біосинтезу білка та зниженням активності ферментних систем, що беруть участь в обміні амінокислот. Результати проведених досліджень узгоджуються з даними інших авторів, які показали, що у старих тварин вміст амінокислот знижується, а інтенсивність метаболізму амінокислот залежить від віку.

Похила А., Буслик Т., Сибірна Н.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ МЕМБРАН ЕРИТРОЦИТІВ В НОРМІ ТА ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1-ГО ТИПУ

Львівський національний університет імені Івана Франка

Вул. Грушевського 4 . м. Львів, 79005, Україна

E-mail: frog_traveller@ukr.net

Важливу роль у патогенезі цукрового діабету (ЦД) відіграють модифікації структурно-функціонального стану мембран еритроцитів. Удосконалення і розширення спектра засобів корекції метаболічних порушень при ЦД на сьогодні є актуальним завданням. Для розвитку ЦД важливе значення має індукція синтезу NO. Аналіз відомих способів і засобів послаблення токсичної дії NO і корекції паталогічних станів пов'язаних з його гіперпродукцією в організмі, свідчать про те, що лише використання інгібіторів NO-синтаз вибіркової дії, які пригнічують, передусім, індукцибельну NO-синтазу (iNOS) є перспективним за умови усунення властивої їм, як антиметаболітам, значної загальнотоксичної дії. Метою роботи було дослідити структурно-функціональні зміни мембран еритроцитів периферичної крові та оцінити вплив основного субстрату NOS – L-аргініну та селективного інгібітора iNOS – аміногуанідину (АГ) на морфофункціональні характеристики еритроцита в нормі та за умов ЦД 1-го типу.

Досліди були розділені на дві частини. В першій частині дослідів ми обстежували людей хворих на ЦД 1-го типу – 22 особи, віком від 15 до 35 років (тривалість захворювання від 4-16 років). В другій частині дослідів проводили на 56 щурах-самцях лінії Вістар масою 180-210 г. Експериментальний ЦД (ЕЦД) відтворювали внутрішньочеревним введенням стрептозототину („Sigma”, США) з розрахунку 7 мг на 100 г маси тіла. Тваринам *per os* вводили з питною водою аміногуанідину („Sigma”, США) у концентрації 1 г/л протягом 30 днів. Для отримання препаратів мембран еритроцитів руйнували осмотичним шоком за методом Doodge. Розділені

ня білків проводили методом електродифузії в 10% поліакриламідному гелі за наявності 0,1% додецилсульфату натрію. Сумарний вміст мембранозв'язаних сіалових кислот визначали за методом Ворена. Концентрацію білка в пробах вимірювали за методом Лоурі.

За умов ЦД 1-го типу спостерігалися значні зміни у відсотковому співвідношенні основних білків цитоскелету еритроцитів. Вміст фракцій, які можуть бути ідентифіковані як α -спектрин, β -спектрин та анкірин знижувались на 7,7 %, 8,4 % та 10,9 % відповідно. При цьому відбувалося зростання вмісту білка смуги 3 на 10,1 %. За умов патології відбулося зниження вмісту фракцій 4.1 та 4.2 на 7,7 % та 6,1 %, відповідно. Також ми спостерігали зниження фракції з молекулярною масою 32 кДа (на 22,8 %), що за літературними даними відповідає дегідрогеназі 3-фосфогліцеранового альдегіду (Гл-3-ФД). У щурів з ЕЦД вміст α -спектрину, β -спектрин, анкірину мембран еритроцитів зростав відповідно на 23,3 %, 24,4 %, 24,4 % порівняно з контрольною групою тварин, а введення АГ і L-Arg зумовлювало зниження даних фракцій на 20,4 % і 16,4 %, 22 % і 19,6 %, 20,2 % і 14 %, відповідно. За умови ЕЦД вміст білка смуги 3 зростав на 22,5 % порівняно з контролем, тоді як введення АГ знижувало кількість даного білка на 16 %, а L-Arg викликало зростання на 5,3 % порівняно з дослідною групою. Вміст білка смуги 4.1 знижувався при ЕЦД на 5 % порівняно з контролем, а за умов введення АГ і L-Arg вміст цього білка знижувався на 16 % та 3 % у дослідних і на 9,4 % та 14,5 % у контрольних групах тварин, відповідно.

На поверхні еритроцитарної мембрани основними носіями фіксованого негативного заряду виступають сіалові кислоти. Тому на наступному етапі роботи ми визначали вміст сіалових кислот в мембранах еритроцитів. Результати досліджень показали, що за даного захворювання сумарний вміст мембранозв'язаних сіалових кислот в еритроцитах людей знижувався, в середньому, на 27 %, при цьому рівень ліпідзв'язаних сіалових кислот зменшувався на 35 %, а протеїнівзв'язаних на 26 %. При дослідженні вмісту мембранозв'язаних сіалових кислот за умов стрептозотоцинового цукрового діабету ми спостерігали зниження більше ніж на 20 %. Введення L-аргініну та аміногуанідину контрольній групі тварин не викликало достовірних змін цього показника, натомість за умов ЕЦД вміст сіалових кислот зростав на 20 % за введення L-аргініну та майже на 40 % – аміногуанідину.

Отже, встановлено, що за умов ЦД 1-го типу спостерігається значний перерозподіл білкових компонентів плазматичних мембран еритроцитів, насамперед, α -та β -спектрину, анкірину та білка смуги 3, а також зміни у функціональному стані мембран еритроцитів, що проявляються у зменшенні вмісту мембранозв'язаних сіалових кислот. Блокування синтезу оксиду азоту за умов ЕЦД шляхом застосування селективного інгібітора iNOS (аміногуанідину) мало нормалізуючий вплив на досліджувані показники, що свідчить про доцільність його застосування з профілактичною метою для попередження розвитку діабетичних ускладнень.

Роїк А., Шепельова І.

КОНЦЕНТРАЦІЯ МЕТАБОЛІТІВ ГЛІКОЛІЗУ В КРОВІ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: iryna-sh@yandex.ru

Активация гліколізу в організмі тварин у віковому аспекті має свої особливості. Цей процес можна розглядати насамперед, як компенсаторну реакцію, що спрямована протидіяти зниженню ефективності використання кисню, а також є необхідною для додаткового синтезу АТФ (Кендыш И.И., 1985). В організмі молодих тварин ступінь активації гліколізу є значно нижчим, порівняно з дорослими і старими, тобто в процесі старіння послаблюється дія механізмів, що контролюють потенційні резерви гліколітичної системи.

Одночасно, активация гліколізу супроводжується збільшенням надходження пірувату в систему окиснення і, відповідно, зміною спектра субстратів у циклі трикарбонових кислот (Мельничук Д.О. та ін., 2004). Як показано дослідженнями Sugano T. et al. (1982), синтез глюкози в організмі визначається не тільки утворенням субстратів глюконеогенезу, але й

співвідношенням піруват/лактат. Збільшення вмісту пірувату і лактату в крові та тканинах посилює зсув кислотно-лужної рівноваги організму в бік ацидозу.

Метою нашої роботи було дослідити концентрацію метаболітів гліколізу (пірувату і лактату) у крові щурів різного віку.

Досліди проведено на щурах трьох вікових груп: 3-місячного віку (період статевого дозрівання; молоді), 6-місячного віку (період статевої зрілості, дорослі) і 18-місячного віку (період старості; старі).

Дослідження концентрації метаболітів гліколізу показали вірогідне підвищення концентрації лактату в крові дорослих щурів у 1,2 раза, старих щурів – у 1,4 раза відносно цього показника у крові молодих щурів.

На фоні підвищення концентрації лактату в крові щурів з віком, встановлено зниження концентрації пірувату в крові дорослих щурів у 1,4 раза, старих щурів – у 1,8 раза відносно цього показника у крові молодих щурів.

Надлишок концентрації лактату ймовірно вказує на активацію анаеробних процесів гліколізу з віком. Водночас, зниження концентрації пірувату в крові дорослих і старих щурів може свідчити, що процеси вуглеводного розщеплення гальмуються на стадії окиснення пірувату.

Аналізуючи дані щодо концентрації метаболітів гліколізу (лактату і пірувату) у крові щурів 3-, 6- і 18-місячного віку, можна зробити висновок про відмінності інтенсивності процесів вуглеводного обміну залежно від віку тварин.

Таким чином, виявлене з віком пригнічення активності гліколізу може свідчити про зниження потенційних резервів гліколітичної системи.

Слід відмітити, що встановлені зміни концентрації метаболітів гліколізу з віком пов'язані з особливостями метаболізму в молодому організмі і свідчить про зниження інтенсивності окисно-відновних процесів та накопичення недоокиснених продуктів проміжного обміну з віком.

Саулюк Л., Деркач Є.

ВПЛИВ КАДМІЮ НА АКТИВНІСТЬ АСПАРТАТАМІНОТРАНСФЕРАЗИ У КРОВІ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: iryna-sh@yandex.ru

Серед важких металів кадмій займає провідні позиції за ступенем токсичності, що пов'язане з його здатністю інтенсивно накопичуватись в організмі, зокрема в печінці та нирках, пошкоджувати клітинні мембрани, блокувати процеси дихання в мітохондріях тощо (Перевозников М.А., 1999). Даний важкий метал утворює міцні комплекси з ферментами, за рахунок зв'язування з SH-групами. Одним з кінцевих проявів токсичної дії кадмію є генерація активних форм кисню, пероксидних модифікацій молекул і виснаження системи антиоксидантного захисту організму (Османов И.М., 1996).

Враховуючи той факт, що зміна активності амінотрансфераз у сироватці крові відмічається при цілій низці захворювань, особливо при ураженні тканин печінки, метою нашої роботи було дослідити вплив кадмію на активність аспартатамінотрансферази у крові щурів різного віку.

Дослід проведено на щурах трьох вікових груп: 3-місячного віку (період статевого дозрівання; молоді), 6-місячного віку (період статевої зрілості, дорослі) і 18-місячного віку (період старості; старі).

Кадмієвий токсикоз викликали шляхом щоденного внутрішньочеревного введення кадмію сульфату в 0,9 % розчині натрій хлориду, з розрахунку 0,134 мг/100 г ваги, що становить 1/50 LD₅₀ (Трахтенберг И. М., 1994).

Результатами наших досліджень показано, що отруєння кадмієм призводить до підвищення активності амінотрансферази у крові щурів усіх вікових груп.

Встановлено, що в групі отруєних щурів 3-місячного віку активність аспартатамінотрансферази є найвищою порівняно зі щурами 6- та 18-місячного віку і становить 313,07 ± 24,87 ммоль/год·л, відносно інтактних тварин (238,80 ± 23,16 ммоль/год·л).

Відомо, що ураження клітинної мембрани відіграє визначальну роль у патогенезі отруєння кадмієм (Sorensen E.M., 2006). Це супроводжується швидкою втратою внутрішньоклітинних компонентів – електролітів та ферментів, що виходять у позаклітинний простір. Аспартатамінотрансфераза надходить у кров через пошкоджену клітинну мембрану гепатоцитів. Найбільш виражене зростання активності зазначеного ферменту відмічене у крові щурів 3-місячного віку, на наш погляд, з одного боку можна пояснити інтенсивною біокумуляцією кадмію в цитоплазмі клітин, і з іншого - недостатньо сформованою системою антиоксидантного захисту в організмі молодих тварин.

Сидір-Басараб І.¹, Калачнюк Л.¹, Калачнюк Г.¹, Мельничук Д.²

ЗМІНИ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ ЗА ДІЇ ЕКЗОГЕННИХ ЧИННИКІВ

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій

ім. С.З. Гжицького

вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна

²Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, Україна

E-mail: lilimarg@polynet.lviv.ua

Раніше показано, що при завчасному застосуванні фосфоліпідвмісних комплексних препаратів рослинного й тваринного походження (EPL, ELP-MD і LP), відбувається нормалізація інтенсивності окисно-відновних процесів і трансамінування в організмі інтоксикованих алкоголем тварин (Калачнюк Г.І. та ін., 2007, 2008). Окрім цього важливо знати вплив згаданих екзогенних чинників на інші біохімічні показники крові, що мають діагностичне значення.

Досліди проводили на 25 щурах-самцях живою масою 130-150 г, які були розділені на 5 груп по 5 тварин у кожній. Щури 1^{oi} (контрольної) групи у складі раціону одержували ізокалорійний розчин глюкози (40 % розчин). Тварини 2, 3, 4 і 5 груп отримували (окрім глюкози) алкоголь (30 % v/v) по 8 г/кг живої маси *per os*. Крім цього щури 3, 4 і 5 груп за 1 год до введення етанолу і глюкози додатково отримували (відповідно по групах фосфоліпідний препарат із сої EPL (“Ессенціале“, 25 мг/ 1 кг живої маси), FLP-MD (фосфоліпідний молочний комплекс, 25 мг/кг живої маси) і LP (ліпосомальна форма фосфоліпідного молочного препарату, 10 мг/1 кг живої маси).

За допомогою стандартних комплектів реактивів “Lachema” (Чехія) визначали активність γ -глутамілтранспептидази (γ -ГТП), яка каталізує реакцію перенесення L- γ -глутамілового залишку з L- γ -глутаміл-4-нітроаніліда на гліцилгліцин. Звільнений у ході реакції 4-нітроанілін виступає мірою активності γ -ГТП. Вміст білірубіну (БР) у сироватці крові та концентрацію триацилгліцеролів (ТАГ) і холестеролу (ХОЛ) визначали за прописами (Кондрахин І.П. и др., 1985). Одержані цифрові дані обробляли статистично.

Оскільки ензим γ -ГТП присутній у крові (але відсутній в еритроцитах), жовчі, сечі, органах і тканинах цілого організму (наприклад, його активність у сечі в 4-6 разів вища, ніж у крові), то зміни його активності використовують з діагностичною метою. У сироватці крові тварин його активність коливається в межах 8-90 U/L (мкмоль/хв./л) або 130-1600 нмоль/с.л. Активність цього ензиму підвищується при гепатитах і дистрофіях печінки та хворобах жовчних шляхів (Кондрахин І.П. и др., 1985). Зміни активності γ -ГТП у сироватці крові щурів у залежності від умов досліду свідчать, що за умов алкогольіндукованого стеатозу в сироватці крові щурів активність цього ензиму зростає майже у 3 рази, а при завчасному вживанні різних фосфоліпідвмісних препаратів вона по-різному знижується, прямуючи до рівня контролю. Причому найефективнішу нормалізацію показників спостерігали при застосуванні препаратів тваринного походження і передусім, ліпосомальної форми. Зміни активності γ -ГТП знаходяться у прямій кореляції із відхиленнями рівнів вмісту білірубіну, триацилгліцеролів і холестеролу. Наші дані свідчать, що вживання тваринами алкоголю викликає вірогідне підвищення (у 2 рази) вмісту білірубіну у сироватці крові. Це вказує на пошкодження печінки з порушенням її детоксикаційної та видільної функцій. Застосування досліджуваних фосфоліпідвмісних препаратів спрямовує метаболічні процеси в печінці в бік нормалізації, а

серед екзогенних чинників більш ефективними виявляються препарати тваринного походження і зокрема – ліпосомальної форми (LP).

Отже, отримані результати засвідчують, що за умов токсичної дії екзогенного етанолу вірогідно зростають у крові концентрації триацилгліцеролів і холестеролу, білірубіну та активність γ -ГТП. Це узгоджується із змінами вмісту ТАГ і ХОЛ безпосередньо у клітинах печінки піддослідних тварин (Калачнюк Л.Г. та ін., 2007), а також і активності ключових алкогольметаболізуючих реакцій у гепатоцитах (Калачнюк Л.Г. та ін., 2006). При цьому показано відновлювальний вплив застосованих фосфоліпідвмісних препаратів рослинного і тваринного походження.

Сиротинська І., Нечитайло Л.

ВПЛИВ НІТРАТНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ НА МІКРО – ТА МАКРОЕЛЕМЕНТНИЙ СПЕКТР ОРГАНІВ І ТКАНИН ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН

Івано-Франківський національний медичний університет, кафедра медичної та біологічної хімії імені акад. Г.О. Бабенка

Вул. Галицька, 2, м. Івано-Франківськ, 76018, Україна

E-mail: polira@inbox.ru

Значна кількість водонесних горизонтів забруднена різними шкідливими для організму людини сполуками. Особливої уваги серед них заслуговують нітрати. В результаті нераціональної і необдуманної діяльності людини виникло порушення екологічного балансу, що спричинило накопичення нітратів в рослинних продуктах і питній воді. Вживання питної води з підвищеним вмістом нітратів зумовлює порушення гомеостазу організму людини та тварин. У зв'язку із цим важливим є дослідження мікро-та макроелементного складу живих організмів, зокрема вмісту таких життєво необхідних елементів як магній, мідь і цинк за умови нітратної інтоксикації.

Метою роботи було вивчення змін хімічного складу органів і тканин експериментальних тварин за умови інтоксикації нітратом натрію. Дослідження виконані на статевозрілих щурах самцях масою 180-200г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. При проведенні експерименту дотримувались рекомендацій щодо медико-біологічних досліджень згідно з міжнародними принципами Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» Страсбург 1986. Піддослідних тварин було поділено на дві групи: I- інтактні тварини, яким вводили фізіологічний розчин, II - тваринам вводили розчин нітрату натрію в дозі 1/10 LD₅₀ протягом 10-ти днів перорально. Збір матеріалу проводили на 1-, 14-, 28-у добу після завершення введення токсиканта нітрату натрію. Концентрацію мікро-та макроелементів визначали в тканинах селезінки, печінки, нирках, серці, на атомно- абсорбційному спектрофотометрі.

Порівняльний аналіз вмісту магнію в органах і тканинах інтоксикованих тварин з вмістом його в аналогічних органах і тканинах контрольної групи показав, що рівень магнію найбільш високий на 1-ї 14-у добу інтоксикації в усіх досліджуваних органах і тканинах. Аналізуючи вміст міді в органах і тканинах, можна відмітити зростання його в нирках на 1-у добу – в 1,8 раз, 14 – і 28 -2,5 раз. У тканинах селезінки, печінки, серці вміст міді зростає в пізні періоди експерименту, найвищий рівень в серці. Відносно рівня цинку, то слід відмітити, що в печінці його рівень збільшується в найбільшій мірі на 1-у добу, в інших органах і тканинах – в пізньому періоді інтоксикації, зокрема в нирках в 2,2 раз, селезінці в 3,4 раз, серці в 5,6 раз. Таким чином, проведені нами дослідження показують, що в організмі експериментальних тварин, які тривалий час вживають воду з підвищеним вмістом нітрату натрію, спостерігається дисбаланс есенціальних елементів: магнію, міді, цинку, що може призвести до порушень активності ферментних систем, гормонального фону, процесів метаболізму. Одержані нами результати вказують на необхідність продовження експериментальних досліджень.

Єршов С.¹, Александрова Д.¹, Сєміонова К.²

ЧУТЛИВІСТЬ ЕРИТРОЦИТІВ ССАВЦІВ ДО ДІЇ РІЗНИХ ВИДІВ СТРЕСУ.

¹*Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків*

²*Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна*

E-mail: semionova_k@mail.ru

Еритроцити є зручним об'єктом для вивчення впливу різних стресових факторів. Вплив зміни осмотичних і температурних умов, а також дії механічного навантаження на еритроцити людини вивчений достатньо добре. У той же час дія стресових факторів на еритроцити інших видів ссавців вивчена недостатньо.

Мета роботи - порівняльне дослідження чутливості еритроцитів ссавців (людина, шур, кролик) до гіпертонічного шоку (4,0 М NaCl), гіпертонічного кріогемолізу (охолодження клітин від 37 до 0°C в гіпертонічних середовищах) і механічному стресу (в умовах рідини, що швидко рухається).

При перенесенні еритроцитів ссавців до середовища, яке містить 4,0 М NaCl, спостерігається пошкодження клітин і при 37°C гемоліз складає 90, 40, і 20% для еритроцитів людини, щура та кролика відповідно. При 0°C спостерігається статистично достовірне зниження зазначених показників для еритроцитів людини та кролика та підвищення для клітин щура. Незважаючи на це, при обох температурних режимах еритроцити згідно зменшенню чутливості до гіпертонічного шоку можна розташувати в ряду людини > щура > кролика.

Охолодження еритроцитів різних видів від 37 до 0°C в гіпертонічних середовищах (0,6 - 1,8 М NaCl) супроводжується гемолітичним пошкодженням клітин, вираженим у різному ступені. Якщо для еритроцитів щура та людини максимальний рівень гіпертонічного кріогемолізу спостерігається у середовищах, які містять 0,8 і 1,2 М NaCl та складає 90 та 80% відповідно, то пошкодження еритроцитів кролика монотонно зростає у всьому концентраційному діапазоні та досягає 40% у 1,8 М NaCl.

Для здійснення механічного стресу суспензію еритроцитів ссавців розміщували в ємність з пластиковими кульками діаметром 5 мм і перемішували за допомогою магнітної мішалки ММЗМ при 20°C на протязі 60 хв. У разі тривалої дії механічного стресу спостерігається руйнування еритроцитів ссавців, які знаходяться у фізіологічному середовищі: рівень гемолізу складає близько 30% для еритроцитів щура та людини; 20% - для клітин кролика. У той же час виміряна за допомогою іон-селективного електрода втрата катіонів K⁺ еритроцитами кролика у 2 рази нижче в порівнянні з клітинами щура та людини.

Таким чином, максимальною стійкістю до дії різних видів стресу мають еритроцити кролика. Для цих клітин характерний більш низький рівень зв'язування гемоглобіну з плазматичною мембраною в порівнянні з еритроцитами інших ссавців. Це може бути в основі функціональних особливостей еритроцитів кролика та обумовлювати стійкість цих клітин до дії стресових факторів, що спостерігалася у досліді.

Тетерук В., Шепельова І.

КОНЦЕНТРАЦІЯ СЕЧОВИНИ В КРОВІ ТВАРИН ЗА УМОВ ОТРУЄННЯ КАДМІО СУЛЬФАТОМ

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: iryna-sh@yandex.ru

Забруднення біосфери важкими металами зумовлено їхньою високою стійкістю та тривалою міграцією. Відомо, що в зонах екологічного забруднення спостерігаються значні порушення обмінних процесів в організмі (Гонський Я.І., 2004). До найбільш небезпечних у токсикологічному відношенні важких металів відносяться кадмій, ртуть, плумбум, арсен і хром. Вплив іонів важких металів і, зокрема, кадмію на регуляторні процеси, що відбуваються в клітині, є надзвичайно різноманітними (Трахтенберг І.М. і ін., 2002). Кадмій є одним з найбільш розповсюджених забруднювачів, який не піддається біотрансформації, і характеризується високою токсичною і канцерогенною дією (Білецька Е.М. і ін., 2000). Йони

кадмію впливають на процеси, які протікають в клітині. Ступінь пошкодження клітини залежить від кількості металу, який накопичується в її структурах (Гонський Я.І., 2005; Cherkasov A.A. et al., 2007).

Встановлено, що на характер взаємодії молодого організму з важкими металами впливає екологічна ситуація, оскільки він є більш чутливим до її змін (Матолінець О.М., 2000; Трахтенберг І.М., 2005). Досліджено, що чутливість ростучого організму до дії ксенобіотиків обумовлена особливостями функціональних систем, які відповідають за їхній метаболізм (Сидорин Г.І., Луковникова Л.В., 2003).

Метою нашої роботи було виявити вікові особливості концентрації сечовини в крові щурів 3-, 6- і 18-місячного віку. Досліди проведено на щурах трьох вікових груп: 3-місячного віку (період статевого дозрівання; молоді), 6-місячного віку (період статевої зрілості, дорослі) і 18-місячного віку (період старості; старі).

Отруєння кадмію сульфатом проводилося шляхом щоденного внутрішньочеревного введення кадмію сульфату в 0,89 % розчині натрію хлориду, з розрахунку 0,134 мг/100 г маси тіла тварини, що становить 1/50 LD₅₀ (Филова В.А. і др., 1988; Трахтенберг І.М. і др., 1994). Інтактним тваринам внутрішньочеревно вводився відповідний об'єм 0,89 % розчину натрію хлориду. Дослід тривав 14 діб. Тварин декапітували під ефірним наркозом на 15 добу від початку досліджу.

Концентрацію сечовини в крові визначали за допомогою біохімічного аналізатора Micro-lab – 200 (Нідерланди). Дослідження проводилися згідно з методиками, визначеними інструкцією, з використанням стандартних наборів реагентів фірми «Human» (Україна).

Результатами одержаних досліджень встановлено вірогідне підвищення концентрації сечовини в крові щурів 3-місячного віку в 2,0 рази, 6-місячного віку – в 1,6 рази, 18-місячного віку – в 1,3 рази відносно цих показників у крові щурів інтактної групи. Таким чином, одержані дані свідчать, що введення кадмію сульфату в організм щурів різного віку призводить до зміни концентрації показників, які характеризують стан азотного обміну. Так, у крові отруєних тварин усіх вікових груп виявлено підвищення концентрації сечовини, що є свідченням посилення сечовиноутворення в тканинах, оскільки кадмій є одним із визначальних факторів, що опосередковано, в результаті низки складних метаболічних перетворень, призводить до виникнення метаболічного ацидозу (Мельникова Н.М., Деркач Є.А., 2006). При цьому в організмі отруєних тварин відбувається процес окисної модифікації білків, який призводить до агрегації або фрагментації білка. Такі окиснені білки є субстратом для протеолітичних ферментів, які, в свою чергу, також обумовлюють зниження в крові концентрації загального білка (Levine R.L., Berlett B.S. et al., 1999; Simpson J.A., 1992).

Найбільш виражені зміни концентрації сечовини відмічено в крові отруєних щурів 3-місячного віку.

Устянська О., Дуденко Ю.

АКТИВНІСТЬ КАТЕПСИН-В-ПОДІБНИХ ФЕРМЕНТІВ ПІД ВПЛИВОМ ТІАМІНУ ТА ТІАМІНТІОЛУ В ТКАНИНАХ БІЛИХ ЩУРІВ

Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова

E-mail: ustjansky_olga@ukr.net

Протеолітичні ферменти не тільки приймають участь у неспецифічному розпаді білкових молекул, але мають і регуляторне значення, являючи собою один із механізмів біологічного контролю функцій органів та тканин організму (Жлоба, 2006).

Оскільки протеолітичний потенціал клітин в значному ступені визначається лізосомним апаратом, дослідження маловивчених лізосомальних катепсин-подібних ферментів, зокрема, катепсин-В-подібних протеаз, викликає особливу зацікавленість (Черная, 1989).

Активність катепсин-В-подібних ферментів регулюється багатьма факторами, одним з яких є дія вітамінів. В літературі існують дані, які доводять можливість існування некоферментної дії метаболітів тіаміну на активність сіркувміщуючих ферментів (Петров, 2006). Можливо, даний механізм реалізується через дісульфідні взаємодії.

Метою наших досліджень було вивчення впливу тіаміну та тіамінтіолу на активність катепсин-В-подібних протеаз у деяких органах щурів.

Відносну активність катепсин-В-подібних ферментів визначали за кількістю продуктів гідролізу синтетичного субстрату N-бензоіларгінін-п-нітроаніліду (БАПНА) при pH 6,0, за методом Erlanger (Erlanger, 1961) в модифікації Вовчук, Чернадчук (Чернадчук, Вовчук, 2003)

Матеріалом дослідження були гомогенати печінки, нирок та тонкого кишечника.

В експерименті *in vitro* активність катепсин-В-подібних ферментів визначали в супернатанті після додавання розчинів тіаміну та тіамінтіолу в наступних концентраціях: 0,125; 0,25; 0,5; 1,0 мкг/мл.

Після додавання тіаміну та його тіольної форми в надосадову рідину, *in vitro* у різних концентраціях ми спостерігали значне зниження активності катепсин-В-подібних ферментів, відносно показників контрольної групи щурів. Виняток складали тканини тонкого кишечника, в яких при додаванні тіольної форми тіаміну в концентрації 0,5 мкг/мл активність досліджуваних ферментів мала тенденцію до росту

Що стосується змін активності катепсин-В-подібних ферментів під впливом різноманітних концентрацій тіаміну та тіамінтіолу, то нами були отримані такі дані: після додавання 0,25 мкг/мл тіаміну, ми відмітили мінімальні показники в тканинах всіх досліджуваних органах. Максимальну активність ферментів ми спостерігали в тканинах печінки, нирок при додаванні тіаміну в концентрації 0,125 мкг/мл; в тканинах тонкого кишечника – при додаванні 1,0 мкг/мл. Такі зміни активності катепсин-В-подібних ферментів можливо пояснюються різноманітними функціями досліджуваних органів.

Після додавання тіамінтіолу в надосадову рідину закономірності відносно концентрацій у досліджуваних органах нами не встановлено.

Наші дані дозволяють припустити, що тіамін та його тіольна форма інгібують активність катепсин-В-подібних ферментів в тканинах білих щурів. Суттєвої різниці між інгібуючим ефектом тіаміна та його тіольної форми ми не установили. Інгібування тіаміном та тіамінтіолом катепсин-В-подібних ферментів, очевидно, зв'язано з взаємодією вітаміна з залишками цистеїна в активному центрі фермента.

Фінюк Н.¹, Мелікян С.², Бродяк І.¹, Винницька Б.³, Стасик О.³, Сибірна Н.¹

ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ L-АРГІНІНУ ТА ЙОГО КАТАБОЛІТІВ У КУЛЬТУРАЛЬНОМУ СЕРЕДОВИЩІ ПУХЛІННИХ КЛІТИН

¹ Львівський національний університет імені Івана Франка

² Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок

³ Інститут біології клітин НАН України

В біологічних рідинах загальний вміст α -амінокислот підтримується на сталому рівні. Зміни у вмісті та співвідношенні амінокислот у позаклітинній рідині, плазмі крові або сечі вказують на швидкість протікання біохімічних процесів, а також на різноманітні порушення метаболізму в організмі. Збільшення чи зменшення кількості α -амінокислот у тканинах і рідинах організму може виступати у якості діагностичного показника патологічних порушень і захворювань. У зв'язку з цим актуальним завданням біології, медицини та фармакології є розробка точних, доступних і зручних методів кількісного та якісного аналізу амінокислот у різних біологічних об'єктах. З усього різноманіття методів аналізу амінокислот можна виділити чотири основні групи: хроматографічні, спектрофотометричні, титриметричні та електрофоретичні. Однак найбільш точним є визначення вмісту амінокислот високоефективною рідинною хроматографією, оскільки даний метод дозволяє виявляти досліджувані речовини в надзвичайно низьких діапазонах концентрацій - у 10^{-9} моль/л.

Метою нашої роботи було підібрати оптимальні умови для хроматографічного визначення L-аргініну та його катаболітів у культуральному середовищі із застосуванням високоефективної рідинної хроматографії з флюорометричним детектуванням.

Для ідентифікації піків типових для кожної із амінокислот, за підібраних умов хроматографії, аналіз проводили у три етапи. Першою досліджували холосту пробу, яка містила бідистильовану воду; 1 % розчин натрію додецилсульфату; ортофталевий діальдегід. На другому етапі аналізували стандартний розчин L-аргініну у концентрації 0,05 ммоль/л. Третім кроком досліджень було співставлення шляхом накладання хроматограм, отриманих на першому та другому етапі роботи, що дозволило ідентифікувати характерний пік L-аргініну на фоні холостої проби. Такі ж етапи аналізу були проведені для визначення цитруліну та орнітину. Встановлено, що час виходу піку аргініну спостерігався на 29,5 хв, цитруліну - 25,5 хв та орнітину - 68,5 хв.

Модифікована нами методика може бути використана для визначення якісного складу та кількісного вмісту амінокислот у біологічних матеріалах, оскільки час виходу піків для L-аргініну та його катаболітів достовірно відрізняються один від одного. Розроблена методика ідентифікації L-аргініну та його похідних була перевірена на відтворюваність визначення вмісту досліджуваних амінокислот у культуральному середовищі для вирощування моношарових клітин пухлин. Порівняння хроматограм отриманих під час аналізу культурального середовища при додаванні до нього розчину L-аргініну та орнітину з хроматограмами стандартних розчинів амінокислот певної концентрації дозволило нам визначити не лише якісний склад, але й кількісний вміст досліджуваних амінокислот у культуральному середовищі.

Висновки. Підібрано оптимальні умови хроматографічного визначення вмісту амінокислот (L-аргініну, орнітину і цитруліну) в розчинах у присутності інших амінокислот. Аналіз культурального середовища для вирощування моношарових пухлинних клітин показав достатню селективність методики для визначення вмісту L-аргініну та L-орнітину. Хроматографічний аналіз вмісту цитруліну в модельному культуральному середовищі для вирощування моношарових клітин показав недостатню селективність методики для його визначення та необхідність подальшого вдосконалення умов градієнтної елюції досліджуваних речовин.

Хохла М., Чайка Я., Клевета Г., Сибірна Н.

**ЦУКРОЗНИЖУВАЛЬНИЙ ЕФЕКТ ЕКСТРАКТІВ ГАЛЕГИ ЛІКАРСЬКОЇ
(*GALEGA OFFICINALIS L.*) ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005*

Цукровий діабет (ЦД) є одним з найбільш поширених захворювань, оскільки кількість хворих постійно збільшується у всіх країнах (за даними ВООЗ на сьогоднішній день у світі нараховується більше 150 млн. хворих). Поряд з традиційними методами лікування ЦД у наш час все ширше застосовують альтернативні, допоміжні засоби, які сприяють компенсації захворювання. До них відносять фітотерапію, можливості якої є надзвичайно широкі, однак ще достатньо не оцінені. Пошук ефективних лікарських засобів для профілактики, лікування і попередження діабетичних ускладнень є одним із найважливіших медико-соціальних завдань сучасної фармакології. Галега лікарська – використовується у нетрадиційній медицині для лікування ЦД. Гіпоглікемічний ефект галеги лікарської встановлено ще у 1927 році. Проте, літературні дані про цукрознижувальну дію трави і насіння даного виду суперечливі.

Мета роботи – дослідження гіпоглікемічної дії препаратів, отриманих із спиртового екстракту галеги лікарської, за експериментального стрептозотоцинового діабету.

Для досліджень використовували траву галеги лікарської, з наземної частини рослини виготовляли спиртовий екстракт шляхом настоювання у 90% етиловому спиртї в співвідношенні 1:5 при кімнатній температурі. Екстракт упарювали у вакуумі при температурі 50-55°C до одержання екстракту консистенції повидла. Отриманий залишок розділяли на водну та хлороформну фракції. Водний розчин упареного вихідного спиртового екстракту називали – препарат №1, а розчин водної фракції – препарат №2.

Проведені дослідження підтверджують цукрознижувальну активність препарату №1, отриманого із сумарного спиртового екстракту галеги лікарської як у контрольних тварин,

так і тварин зі стрептозотоциновим діабетом. Препарат №2, отриманий із водної фракції загального спиртового екстракту, теж виявляв задовільну цукрознижувальну дію за умов діабету, але був менш успішним у пролонгованості ефекту після припинення дії препарату.

Отримані результати дають змогу рекомендувати використання препаратів із спиртового екстракту галегі лікарської для зниження рівня гіперглікемії при цукровому діабеті.

Чернишенко В.

**ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ ФІБРИНОГЕНАЗИ З ОТРУТИ
ECHIS MULTISQUAMATIS ЯК ФІБРИНОГЕНУВАЛЬНОГО АГЕНТА**

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Київський Національний університет ім. Т.Г. Шевченка, м. Київ

E-mail: bio.cherv@gmail.com

Підвищений рівень фібриногену (гіперфібриногенемія) сама по собі не викликає тромбозів, проте за умов розбалансування системи гемостазу може призводити до значних тромботичних ускладнень. Тенденція до розвитку гіперфібриногенемії при численних патологіях змушує шукати вирішення даної проблеми та підходи до швидкого та безпечного зниження рівню фібриногену в кровотоці.

Дефібриногенувальні агенти, зменшуючи вміст фібриногену в кровотоці, зменшують густину крові та можуть бути придатні для забезпечення стабільної трансфузії внутрішніх органів при серцево-судинних захворюваннях. Існують три основні стратегії прямого дефібриногенування: використання тромбін-подібних ферментів (анкрод), фібринолітиків (фібрinolаза, алфімепраз) та фібриногенолітиків. Використання тромбін-подібних ферментів гальмується поперше виникненням кровотеч при передозуванні, по-друге – внутрішньосудинним тромбоутворенням при відщепленні фібринопептидів. У випадку фібринолітиків, загрозу становить висока геморагічна активність багатьох металопротеїназ, до яких вони переважно належать.

В наш час як перспективний напрямок розглядається використання фібриногеназ у якості дефібриногенувальних агентів. Не відщеплюючи фібринопептиди, ці ферменти зменшують коагуляційну здатність фібриногену і, водночас, не індукують тромбоутворення, не впливають на фібринолітичну та антикоагулянтну системи, рідко проявляють геморагічну активність.

Нами було отримано та охарактеризовано фібриногеназу з отрути ефі багатолускової (*Echis multisquamatis*), що належить до класу β -фібриногеназ та, за даними інгібіторного аналізу, є сериною протеїназою. Молекулярна маса становить 35 ± 1 кДа. Показана відсутність фібринолітичної, геморагічної та гемолітичної активностей, широка амідазна активність. Водночас, не виявлено впливу фібриногенази на ключові білки системи зсідання крові: протромбін, плазміноген та протеїн С. Цікавою є здатність фібриногенази розщеплювати згусток, утворений дезАА-фібрином (з присутніми фібринопептидами В).

З метою локалізації місць розщеплення β -ланцюга фібриногену було проведено гідроліз Д-фрагменту (периферичні домени молекули фібриногену), N-DSK-фрагмент (центральный Е-домен з нативними фібринопептидами). Гідроліз під дією фібриногенази спостерігався лише у випадку N-DSK-фрагменту. Отже, мішенню гідролітичної дії отриманої фібриногенази насамперед є N-кінцеві ділянки β -ланцюга молекули фібриногену.

Гідроліз фібриногену отриманою фібриногеназою вже на ранніх стадіях призводить до значного зниження його коагуляційної здатності. Зокрема, 2,5-хвилинна експозиція 1,5 мг/мл фібриногену з 0,0015 мг/мл фібриногенази призводить до зниження швидкості тромбін-індукованої полімеризації на 30%. Подальший гідроліз протягом 30 хв не зменшує час утворення згустку більш ніж на 40%.

Таким чином, дана фібриногеназа не має описаних для ферментів зміїних отрут побічних ефектів та діє на фібриноген високоселективно. Помірно зменшуючи коагуляційну здатність фібриногену, даний фермент не призводить ні до полімеризації, ні до глибокого гідролізу молекули фібриногену. З огляду на визначені властивості, потребує глибшого аналізу його придатність до застосування у якості дефібриногенувального агента у клінічній практиці. На даному етапі досліджень можливе вивчення дефібриногенувальної дії у системі *in vivo*.

Склярів О., Грюк І., Шамро Н.

**ВПЛИВ ВІТАМІНІВ Е ТА С НА ПРОЦЕСИ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ
ТА ВМІСТ ОКСИДУ АЗОТУ В ТОВСТІЙ КИШКІ ЗА УМОВ СТРЕСУ**

Рівненський державний гуманітарний університет

E-mail: grjuk@inbox.ru

Дія стресу є одним з факторів, здатних призвести до виникнення ульцерогенного коліту [Kucharzik T. et al., 2006]. Стрес викликає зростання швидкості процесів ліпопероксидації та змінює активність NO-синтаз [Склярів О.Я та співавт., 2007]. У підтримці антиоксидантного статусу приймають участь не тільки ензими - супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза, але й вітаміни Е, С, А [Владимиров Ю.А., 1986; Beyer R. E., 1994]. Показана роль вітамінів Е та С у антиоксидантних та цитопротекторних механізмах клітин різних органів: при оксидативному ушкодженні клітин крові [Armutcu F. et al., 2005; Wang Q.Z. et al., 2005], нейро- та гепатотоксичних станів [Gokalp O. et al., 2003], експериментальному діабеті [Garg M.C., 2005], токсичному ушкодженні нирок [Kadkhodae M. et al., 2005]. Дія вітаміну Е та вітаміну С обумовлена їх здатністю попереджувати розвиток оксидативного стресу, а у випадку його виникнення – зменшувати активність перебігу. Вітаміни Е та С відіграють важливу роль у регуляції механізмів цитопротекції, антиоксидантному захисті та забезпеченні структурно-функціональної цілості компонентів слизової оболонки товстої кишки (СОТК). Роль антиоксидантних вітамінів (вітаміну Е та вітаміну С) за умов стресу в регуляції процесів ліпопероксидації та активності NO-синтаз у СОТК вивчена недостатньо.

Дослідження проведені на 36 щурах. Стрес викликали інтраперитонеальним введенням адреналіну (у дозі 2 мг/кг) [Белостоцкий Н. И., 1988]. Для оцінки процесів ліпопероксидації та стану антиоксидантної системи у СОТК визначали вміст МДА [Тимурбулатов М.А., Селезнев Е.И., 1981], оксиду азоту (NO) [Green L.C., David A.W., 1982], активність супероксиддисмутази (СОД) [Чевари С., Андял Т., Штрэнгер Я., 1991] та каталази. Досліджували самостійну дію вітаміну Е, який вводили в дозі 150 мг/кг за 15 хв до дії адреналіну [Altuntas I., Delibas N., Demirci M. et al., 2002], та поєднаний вплив вітамінів Е та С (200 мг/кг) [Gokalp O., Guile K., Sulak O. et al., 2003]. Контролем розвитку стресової реакції при дії адреналіну були структурно-геморагічні ушкодження в слизовій оболонці шлунка.

Дія адреналіну призводила до зростання вмісту МДА на 24%, вміст NO підвищувався на 103 %, активність СОД зменшувалась на 55%, а каталази - на 14% у СОТК.

Введення вітаміну Е на фоні впливу адреналіну суттєво не змінювало вмісту МДА у СОТК, тоді як вміст NO зменшувався на 31%, активність СОД зростала на 82%, а активність каталази не змінювалась у порівнянні з впливом адреналіну.

За умов поєднаної дії вітамінів Е та С на фоні впливу адреналіну, в порівнянні з дією тільки вітЕ, спостерігалось зменшення процесів ліпопероксидації на 11%, вміст NO знизився на 14%, активності СОД та каталази суттєво не змінювались.

Отже, поєднана дія вітамінів Е та С призводить до зменшення процесів ліпопероксидації та вмісту NO у СОТК при стресі. За умов поєднаної дії вітамінів Е та С проявляється тенденція до посилення антиоксидантних процесів у СОТК, що пов'язано як з різними антиоксидантними властивостями вітамінів, так і з їх можливістю змінювати активність ензимів - індукції бельної NOS та циклооксигенази-2.

Юзефович Ю., Ковальова В., Моргаєнко О., Остапченко Л.

**ЛІПІДНО-БІЛКОВИЙ СКЛАД ПЛАЗМАТИЧНИХ МЕМБРАН КЛІТИН СЛИЗОВОЇ
ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО УЛЬЦЕРОГЕНЕЗУ**

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

пр.Академіка Глушкова, 2, м.Київ, 03022, Україна

E-mail: yuzefovych@gmail.com

Виразкова хвороба (ВХ) залишається найбільш поширеною патологією серед хвороб органів травлення в країнах європейського регіону, включаючи Україну. В основі багатьох

патологічних станів організму лежать зміни структурно-функціональних властивостей компонентів біомембран. У зв'язку з цим всебічне дослідження композиції та механізмів функціонування біомембран в нормі і при патології необхідне як для розробки нових методів лікування і профілактики, так і для створення ефективних діагностичних критеріїв.

Метою роботи було дослідити ліпідний склад плазматичних мембран (ПМ) слизової оболонки шлунка (СОШ): вміст фракцій нейтральних та фосфоліпідів при різних експериментальних моделях виразки шлунка (аспіринова, етанолова та стресова), а також дослідити білковий склад ПМ за тих же умов.

У досліді використовували білих щурів лінії Вістар масою 130-150 г. Нейродистрофічні ураження шлунка отримували по моделі іммобілізаційного стресу в модифікації Гройсмана та Каревіної. Етанолові виразки викликали за методом Окабе. Аспіринову виразку індукували пероральним введенням аспірину. ПМ отримували з гомогенату СОШ шляхом диференційної седиментації. Вміст ліпідів визначали за методом Кейса із застосуванням тонкошарової хроматографії. Фракціонування білків ПМ проводили з використанням ТХО. Білковий склад оцінювали методом ДСН-електрофорезу в ПААГ за Лемлі.

В результаті наших досліджень встановлено різнонаправлені зміни вмісту нейтральних ліпідів залежно від ульцерогенного чинника. При аспіриновій моделі виразки вміст нейтральних ліпідів не змінюється. При етанольній моделі підвищується лише вміст холестеролу в 2,6 раза, тоді як при стресовій виразці підвищується вміст як холестеролу в 2,9 раза, так і триацилгліцеролів у 2,5 раза. Дослідження фосфоліпідного складу ПМ клітин СОШ щурів показало зниження вмісту основних класів фосфоліпідів для всіх моделей виразки. Так вміст фосфатидилетаноламіну знижувався при стресовій виразці в 1,6 раза, а при етаноловій в 2 та аспіриновій в 1,2 раза. Вміст фосфатидилхоліну знизився при етаноловій та стресовій моделях в 1,8 раза, а при аспіриновій - в 1,9. Вміст лізофосфатидилхоліну знизився при стресовій моделі в 2 рази; при етаноловій та аспіриновій в 1,4 раза. Вміст фосфатидилсерину знизився при стресовій виразці в 1,7 раза; а при етаноловій та аспіриновій в 1,4 раза. Вміст фосфатидилінозитулу знизився при стресовій моделі в 1,3 раза, при етаноловій в 1,2, при аспіриновій в 1,5 раза, відносно контролю. Раніше нами було показано, що за умов стресової моделі виразки у плазмі крові, гепатоцитах та тимоцитах виявляються низькомолекулярні білки. Однією з можливих причин цього явища розглядали деградацію білків з молекулярною масою 80-100 кДа. Для з'ясування походження цих низькомолекулярних білків був проведений аналіз білкового складу фракції ПМ клітин СОШ щурів при різних експериментальних моделях виразки. Електрофорез білків (у діапазоні 40-150 кДа) фракції ПМ клітин СОШ щурів не виявив змін білкового складу.

Отримані дані дозволяють зробити висновок, що виразка шлунка супроводжується різнонаправленими змінами кількісного вмісту ліпідів ПМ клітин СОШ залежно від ульцерогенного чинника: з одного боку зростанням вмісту нейтральних ліпідів (стресова та етанолова виразки), а з іншого – зниженням вмісту всіх фракцій фосфоліпідів, виявлене для кожної з моделей виразкоутворення. Аналіз вмісту білків ПМ клітин СОШ не виявив змін їх якісного складу.

Юркевич І., Ровенко Б.

**ФУНКЦІОНУВАННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У ОСОБИН *DROSOPHILA*
MELANOGASTER НА ПІЗНІХ ЕТАПАХ ЖИТТЄВОГО ЦИКЛУ**

Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника

вул. Шевченка 57, м. Івано-Франківськ, 76025, Україна

E-mail: streetman-rss@mail.ru

Всередині 50-х рр. 20-ого століття Д. Харман запропонував вільнорадикальну теорію старіння. Відтоді зроблено багато робіт, пов'язаних з вивченням розвитку вільнорадикальних процесів при старінні. Цей напрямок і надалі залишається актуальним. Активно досліджуються, зокрема, вікові зміни антиоксидантних ферментів, які знешкоджують активовані форми кисню.

Порівняно недавно було відкрито, що швидкість старіння може залежати від вуглеводної дієти. Так, підвищена концентрація глюкози при діабеті може сприяти неферментативному глікозилюванню білків. Продукти цього глікозилювання генерують і взаємодіють з активними формами кисню, призводячи до значних окисних пошкоджень в тканинах і прискорення їх старіння. Метою даної роботи було оцінити у особин *Drosophila melanogaster* 40- та 50-денного віку з різною вуглеводною дієтою зміни активностей антиоксидантних ферментів – каталази і супероксиддисмутази (СОД), а також пов'язаних з ними глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г6ФДГ), глутатіонредуктази (ГР) та НАДФ-залежної ізоцитратдегідрогенази (ІЦДГ).

Істотні відмінності в активностях ферментів, які каталізують відновлення НАДФ⁺, – глюкозо-6-фосфатдегідрогенази та ізоцитратдегідрогенази, спостерігали для особин віком 50 днів, яких утримували на середовищах з 4% різних вуглеводів. Так, самці на фруктозній, глюкозній та сахарозній дієтах мали, відповідно, у 2,2, 1,6 та 1,6 рази вищу активність Г6ФДГ, ніж самки. Для ІЦДГ достовірна різниця між самцями і самками була виявлена для особин із глюкозною (2,0 рази) і сахарозною (1,4 рази) дієтами. Відмінність між самцями і самками в активності ІЦДГ помітна також у випадку дієти з 2% досліджуваних вуглеводів. Зокрема, самці на фруктозній, глюкозній і сахарозній дієтах мали відповідно в 1,4, 1,7 та 1,7 рази вищу активність ІЦДГ у 50-денному віці. Проте, на відміну від дієти з 4% вуглеводів, самці мали вищу активність ІЦДГ і в 40-денному віці (в 1,9, 1,8 та 2,0 рази на фруктозі, глюкозі та сахарозі відповідно). Цей факт частково може пояснювати відсутність різниці медіанної тривалості життя самців у порівнянні з такою самок.

Зміни активностей ферментів антиоксидантного захисту із 40-ого на 50-ий день життя дорослих особин не мали чіткої узгодженості. Найбільше відмінностей можна було прослідкувати для особин з фруктозною дієтою, де концентрація вуглеводу була 2%. Так, у самок *D. melanogaster* з цією дієтою із 40-ого на 50-ий день життя в 1,5 рази зростала активність каталази, у 2,3 рази знижувалась активність СОД; у самців – в 1,4 рази зростала активність ГР. Одночасно, активність ІЦДГ у самців, які споживали фруктозу, знижувалась в 1,3 рази. Для особин, утримуваних на дієтах з 4% вуглеводів, зазначені тенденції не відтворювались.

Неузгодженість також помітна між ферментами особин, які споживали різні вуглеводи. Так, у 50-денних самок із сахарозною дієтою (2% сахарози) активність каталази була в 1,4 рази нижчою, ніж у самок з фруктозною. Проте на середовищах з 4% вуглеводів відмінність протилежна: самки із сахарозною дієтою мали на 14% достовірно нижчу активність каталази.

Таким чином, наприкінці життя самці *D. melanogaster* характеризуються вищою активністю ферментів, відповідальних за синтез відновних еквівалентів НАДФН – глюкозо-6-фосфат- та ізоцитратдегідрогенази. В цей же період можна спостерігати тенденцію зростання або зниження активності окремих ферментів системи антиоксидантного захисту.

Якимова О., Чмельова С.

КАЛУСНІ КУЛЬТУРИ ОЛЕАНДРА ЗВИЧАЙНОГО (*NERIUM OLEANDER*) –
ПРОДУЦЕНТИ СЕРЦЕВИХ ГЛІКОЗИДІВ

Таврійський національний університет ім. В. І. Вернадського

E-mail: olyyakimova@yandex.ru

Однією з актуальних проблем сучасної біотехнології є використання культивованих клітин рослин для отримання біологічно активних речовин. Даний напрям широко розробляється у зв'язку з гостротою екологічних проблем і обмеженістю природної лікарської сировини. Використання культивованих клітин рослин дає можливість отримання екологічно чистих лікарських препаратів і збереження рослинних ресурсів.

Олеандр звичайний (*Nerium Oleander*) містить велику кількість біологічно активних речовин, що володіють широким спектром фармакологічної дії. Тому вивчення калусних культур олеандра звичайного є перспективним напрямом в біотехнології, що і стало метою нашої роботи.

Матеріалом для дослідження слугували вегетативні органи олеандра звичайного (*Nerium Oleander*). Як ініціальні експланти використовували сегменти молодого листа і стебел. Для

дотримань умов асептики роботу по введенню експлантів в ізольовану культуру виконували в умовах ламінарного боксу. Встановлено, що для отримання стерильної культури найбільш якісним поверхневим стерилентом є варіант із застосуванням спирту 70% (1хв), брадофену 100% (2-3 хв) і пероксиду водню (5 хв). Для індукції калусоутворення експланти культивували на живильному середовищі Мурасиге і Ськуга (МС), модифіковане фітогормонами в концентраціях: 2,4-дихлорфенілоцетова кислота (2,4-Д) – 2,0 мг/л, індоліл-3-оцетова кислота (ІОК) – 0,5 мг/л і кінетин – 0,5 мг/л і 2,4-Д – 2,0 мг/л, ІУК – 0,5 мг/л і 6-БАП – 0,5 мг/л.

При хімічному аналізі інтактного матеріалу олеандра звичайного було виявлено 9 основних фракцій серцевих глікозидів, з яких – п'ять фракцій гітоксигеніну, дві фракції дигітоксигеніну і дві фракції дигоксигеніну. В стеблах було виявлено 4 фракції, з них три – гітоксигеніну і одна – дигітоксигеніну, а в листі – три фракції дигоксигеніну.

При аналізі калусних культур на вміст серцевих глікозидів нами було встановлено, що вони відрізняються від інтактних експлантів за фракційним складом досліджуваних речовин і при цьому важливе значення має середовище культивування. Так, при аналізі первинних нерізогенних калусних культур, одержаних з листових експлантів і культивованих на середовищі МС з додаванням 2,4-Д (2,0 мг/л), ІОК (0,5 мг/л) і 6-БАП (0,5 мг/л) нами була ідентифікована всього одна фракція глікозидів, яка ідентична глікозидам листя і стебел інтактної рослини. При аналізі первинних калусних культур, що культивуються на модифікованому середовищі МС з додаванням 2,4-Д (2,0 мг/л), ІОК (0,5 мг/л), 6-БАП (0,5 мг/л) і кінетина (0,5 мг/л), були ідентифіковані 2 фракції дигітоксигеніну, властивого листю і стеблам інтактної рослини.

Таким чином, проведення дослідження дозволили підібрати склад живильних середовищ для індукції калусогенезу і експлантів вегетативних органів олеандра звичайного. Хімічний аналіз калусних культур показав присутність в них різних фракцій серцевих глікозидів. Викладені результати підтверджують вже відомі факти про можливість отримання клітинних культур рослин, що накопичують серцеві глікозиди.

Falfushynska H., Gnatishina L., Goch I., Dyakiv V.

COPPER, ZINC, AND CADMIUM BINDING PECULIARITIES OF METALLOTHIONEINS IN CRUCIAN CARP, *CARASSIUS CARASSIUS* IN FIELD CONDITIONS

National Pedagogical University of Ternopil, 46027, Kryvonosa St., 2, Ternopil, Ukraine

E-mail: halynkaF@ukr.net

The important role in the intracellular binding of Zn, Cu and Cd is attributed to low molecular weight, thermostable, sulfhydryl-rich proteins metallothioneins (MT) (Kagi and Schaffer, 1988). The synthesis of MT is often induced when organisms are exposed to heavy metals, especially Cd, both in the laboratory and in the field. Therefore the MT are proposed as a specific “biomarker” response to metal pollution (Roesijadi, 1992). At the same time, in some polluted areas the MT induction in fish was not observed (Rotchell et al., 2001) or their content was not elevated even when MT gene transcription was increased (Hansen et al., 2006). Therefore, the purpose of this study was to ascertain heavy metal fluctuations and the participation of MT in the binding of metals in the tissues of a crucian carp *Carassius carassius* at two feral populations (B, agricultural and municipal mixed polluted area, and F, forest area) during three seasons.

MT were obtained from the liver and gills of fish as thermostable proteins by consequent steps of size-exclusion on Sephadex G-75 and anion-exchange liquid chromatography on DEAE cellulose (Brouwer et al., 1995) and identified by thermostability, low molecular weight, specific spectral features (high value D_{254}/D_{280}), and by the similarity of the chromatographic behaviour to standard rabbit's MT-2. The Cu, Zn, and Cd concentrations were analyzed in the total tissue and its MT forms.

In the tissues of fish from the B site, especially in the liver, Cu content in summer and autumn was twice higher than at the F site. In the liver of these fish the Zn content was also higher. However, the Cd content in autumn was higher at the F site. The rate of metal bound to MT to its total content in the tissue decreased in the order: Cd > Cu > Zn. In the gills of the fish from the B site, especially in summer, Cd rate in MT was not as abundant as usual we observed in the relative unpolluted areas and

this toxic metal was also distributed among other cell targets. The rate of unbound with MT Cu was also much higher at the B site than at the F site in summer and autumn. The same was observed for the Zn distribution within the liver. The comparison of three metals levels in MT reflects that Zn was the most abundant metal. The molar ratio Cd:(Zn+Cu) in MT separate forms was about 1:10 or less than one atom per molecule. The rate of Zn:Cu content in MT was declined from spring to autumn from 12–13 to 3–4 in both sites. MT-2 bound more Zn and less Cu and Cd than MT-1 in most cases.

The comparison of two tissues allows us to conclude that the liver is the most appropriate tissue for studying metal accumulation or MT response in crucian carp. The liver is the main organ for Cu and Cd storage; therefore, the intermittent pollution by these metals may provoke the rise of their concentration in liver tissue. So the unbound with MT metals and low metal buffering abundance of MT in the *C. carassius* liver might reveal one of the reasons or one of the indices of the worst health status of this fish at the B site.

To summarize, only the measuring of metallothioneins binding ability but not the total metal levels in the tissues gave the important information about the health status of the fish and the dangerous to the health status of waterborn metals.

This work has been granted by Ministry of Education and Science of Ukraine (Ukrainian-Korean scientific and technical cooperation joint Project № M/256-2008).

Fedosienko A., Samoylenko A., Vynnytska B., Drobot L.

**OVEXPRESSION OF ADAPTOR PROTEIN RUK/CIN85 AFFECTS EGF-INDUCED
ERK SIGNALLING IN BREAST ADENOCARCINOMA MCF-7 CELLS**

Palladin Institute of Biochemistry NAS of Ukraine

Leontovycha St., 9, Kyiv, 01601

E-mail: sekretar@biochem.kiev.ua

Introduction and objectives: Ruk/CIN85 is a SH3-containing adapter/scaffold protein that plays important roles in endocytosis-mediated down-regulation of receptor tyrosine kinases signalling, negative regulation of PI 3-kinase signaling, control of apoptosis, T-cell activation and rearrangement of actin cytoskeleton. All the available functional data suggest that Ruk/CIN85 plays important roles in the regulation of homeostasis in normal cells and also can be involved in carcinogenesis. The ERK/MAP kinase cascade is stimulated upon EGF binding of to its receptor. There are data that increase in EGF-dependent ERK 1/2 activation results in increase of breast adenocarcinoma MCF-7 cells motility and invasive properties. In the present study we investigated the influence of Ruk/CIN5 overexpression in MCF-7 cells on ERK 1/2 signalling.

Materials and methods: In our study we used clones of MCF-7 cells that stably overexpress full length Ruk/CIN85 form. Cells were stimulated with EGF for 1, 5, 10 and 30 minutes. The plates were frozen, then the cell lysates were obtained and analysed by Western blotting using antibodies to activated (pERK) and total (tERK) ERK.

Results: Western-blotting data revealed changes both in dynamics and level of activation of ERK signalling. It was shown that in the cells that overexpress Ruk/CIN85, in contrast to wild type MCF-7 cells, ERK have been significantly activated already 1 min after EGF addition and maintained at high levels up to 30 minutes after EGF treatment.

Conclusions: The obtained data suggest that increase in EGF-dependent signalling in MCF-7 cells that overexpress adaptor protein Ruk/CIN85 may contribute to their transforming potential.

Górka A., Markiewicz M., Bonarek P., Górecki A., Dziedzicka-Wasylewska M.

**INTRAMOLECULAR INTERACTIONS IN DOUBLE-LABELED DNA OLIGONUCLEOTIDES.
FLUORESCENT AND MOLECULAR DYNAMICS STUDIES**

Jagiellonian University, Gronostajowa St., 7, Krakow, Poland

E-mail: andrzej.gorecki@uj.edu.pl

Carboxy-X-Rhodamine and Carboxy-Fluoresceine are fluorescence dyes commonly used in DNA labeling. Typically, dyes are covalently linked with 5' or 3' DNA ends and are used in various

fluorescence methods. The understanding of their intramolecular interaction with DNA is crucial for proper interpretation of the results where mobility of the dyes or distance between them are monitored.

The aim of the project is to check to possible interactions between Carboxy-X-Rhodamine and Carboxy-Fluoresceine with 20 nucleotide long DNA. Experimental model consists of ssDNA-5' labeled with Carboxy-X-Rhodamine, hybridized with complementary ssDNA-5' labeled with Fluoresceine. Dyes are attached to 5'-end of DNA via C6 carboxy linker.

Carboxy-X-Rhodamine linked to DNA could freely rotate (M. Lorenz et al., October 1999), interact with Minor groove (J. R. Unruh et al., 2005) or Major groove (M. Lorenz et al., June 1999). Fourth possibility is that Dye could be stacked on the top of DNA (M. Lorenz et al., October 1999). Steady-state and time-resolved fluorescence anisotropy measurements in combination with Förster Resonance Energy Transfer (FRET) and molecular modeling will provide information about dye-DNA interactions for a few 20 nucleotide long DNA sequences.

Additional information about dye-DNA intramolecular interaction could be gained from the measurement performed for dye-DNA-protein complex. Collected information would allow to distinguish between possible interactions of dyes-DNA (J. R. Lakowicz et al., 1999).

Gathered information about interactions between DNA and the dye in Dye-Labeled DNA model will be useful for correct calculation of distance between donor and acceptor and their mutual orientation in space for Förster Resonance Energy Transfer efficiency measurements and for indirect measuring of the DNA bending angle by DNA bounded protein.

Acknowledgement:

The research was supported by Grant 3128/P01/2006/31 from the Ministry of Science and Higher Education

Hnatush A.¹, Zdioruk M.¹, Brodiak I.¹, Barska M.², Sybirna N.¹

**PECULIARITIES OF APOPTOSIS OF PERIPHERAL BLOOD LEUKOCYTES
UNDER TYPE 1 DIABETES MELLITUS**

¹*Ivan Franko National University of Lviv*

²*Institute of Cell Biology NAS of Ukraine, Lviv*

E-mail: brodyak_iryina@yahoo.com

E-mail: gnatuk88@ukr.net

Biological reactions that provide intercellular interaction by means of lectins are divided into two types. The first type is reactions produced by the direct contact with the carbohydrates, triggering the intercellular interaction. The second type is reactions caused by the signal influence mediated with the help of membrane receptors which induce a complex chain of intercellular metabolic transformations. It is supposed that lectins have the fundamental ability to obtain the information encoded in carbohydrate residues and transfer it to sensitive intercellular targets. According to published data the exposure of glycoconjugates with final unredutive N-acetyl- α ,D-galactosamine- and β ,D-galactosecontaining carbohydrate determinants prevails on the surface of immunocompetent blood cells with a lower level of differentiation. The usage of lectins specific to the above-mentioned carbohydrate determinants makes it possible to distinguish low differentiation cells in the granulocytic shoot from those mature nonspecifically active, hyperactive, spent or damaged cells which have already activated the process of programmed cell death, i.e. apoptosis.

Therefore, the overall goal of our work is to assess the leukocyte apoptosis peculiarities under type 1 diabetes mellitus (DM), researching into expression levels of antiapoptotic protein Bcl-2 and proapoptotic protein p53, as well as analyzing carbohydrate determinants of leukocyte cell membrane glycoprotein receptors with the usage of Soy lectin- SBA (selectively binds glycoproteins with) of N-acetyl- α ,D-galactosecontaining carbohydrate determinants) and Ricinus lectin- RCA (specifically binds β , D- galactose remnants in glicoligand structures).

Apoptotic cells contain some specific cell-surface markers, which are absent or masked on viable markers, and glycoproteins are among such markers, and they can be modified or appear de novo from the outside of the plasma membrane of blood cells. The data derived from SBA- and RCA- induced

aggregation as well as from lectin cytochemical and lectin blotanalysis concerning the accelerated differentiation and aging of neutrophilic leukocytes of peripheral blood under type 1 diabetes mellitus. The lowering of neutrophilic granulocyte aggregation abilities under the usage of SBA correlates with the obtained data regarding the decrease of RCA- induced neutrophilic aggregation and testifies to the decrease of exposition levels on leukocyte surfaces of N-acetyl- α ,D-galactosamine – and β ,D- galactosecontaining glycoconjugates. The lower was the intensity of lectin linkage with surface glycoproteins of fixed smear cells or extracted leukocyte membranes, the lower were the aggregation level and velocity indices in the suspension of neutrophilic granulocytes under type 1 diabetes mellitus. The redistribution and changes in the structure of leukocyte membrane glycoprotein receptors can cause a number of changes leading to metabolic disorders on the cell level.

The immunocytochemical determination of antiapoptotic protein Bcl-2 and proapoptotic protein p53 levels was one stage further of the research. At rest blood cells are stable to apoptic signals due to high content of antiapoptotic effectors, Bcl-2 proteins in particular.

Under diabetes mellitus, under hyperglycemic conditions, leukocytes become immunologically activated, have increased proliferation and differentiation, thus becoming more sensitive to the factors that trigger the programmed death through the gene expression coding the proapoptotic proteins. The immunocytochemical methods have revealed that under diabetes mellitus the content of the proapoptotic protein p53 is increasing whereas the content of the intercellular antiapoptotic protein Bcl-2 is decreasing in the leukocytes of blood.

Apoptosis inducers, interacting with receptors participate in signal transmission both inside and outside the cell, thus influencing the glycoprotein redistribution on leukocyte surfaces under type 1 diabetes mellitus. The researched proteins are among the most important regulating proteins, which are located at the final ways of signaling and control the function of death or survival of cells. Under type 1 diabetes mellitus, the lowering of the exposure level of N-acetyl- α ,D- galactosamine- and β ,D-galactosecontaining carbohydrate determinants inside glycoconjugates on leukocyte surface correlated with the increase of the content of proapoptotic protein p53 and the decrease of the antiapoptotic protein Bcl-2. The achieved results testify to the fact that such structural changes of leukocyte membrane glycoprotein receptors are inherent in the cells submitted to apoptosis, i.e., receptors with such a structure of carbohydrate determinants on neutrophilic granulocyte surfaces are adapted better to the transmission of the proapoptotic signal.

Kedracka-Krok S., Fic E., Kityk R., Tomasik J., Dziedzicka-Wasylewska M.

PROTEIN PHOSPHORYLATION AND MOLECULAR MECHANISM OF ANTIDEPRESSANTS' ACTION

Jagiellonian University

Gronostajowa St., 7, 30-387 Krakow, Poland

E-mail: rmnkityk@yahoo.co.uk

Phosphorylation is one of the most common posttranslational protein modification which regulates protein activity in various cellular processes. It has been proved that phosphorylation plays important role also in antidepressants' action mechanism. Phosphorylation is a key regulation factor in signalling pathways induced by antidepressants in brain. Only a few of these pathways have been described.

In the presentation, we will present current progress in our investigations of the changes in total rat brain protein phosphorylation upon administration of the antidepressant studied by means of proteomic methods. We have focused on brain structures particularly involved in depression. In the first step, the phosphorylated proteins were enriched from homogenized sample by immobilized metal-affinity chromatography. Then, two-dimensional electrophoresis was performed after which the phosphoproteins were specifically stained in gel and, subsequently, all proteins were stained. Obtained images of gels were then analysed and compared. Such procedure allowed us to pinpoint differences in protein phosphorylation and protein expression between various samples.

Grzywnowicz K., Augustyn A., Bartnik M., Wolk M., Kos K.

MYCOTOXINS OF ENTHOMOPATHOGENIC FUNGI IN HUMAN ENVIRONMENT

University of Maria Curie-Skłodowska, M.C. Skłodowska Sq., 3

20-031 Lublin, Poland

E-mail: grzyw@hermes.umcs.lublin.pl

The housefly, *Musca domestica*, is important to sanitary medicine since it acts as a mechanical and/or biological vector for various pathogenic agents, including human and domestic animal parasites. Connections of houseflies and fungi, including enthomopathogenic fungi, are obvious. These pathogens are transmitted on the fly's cuticle mainly. Many of fungi species are pathogenic to humans, animals, plants and other fungi. Pathogenic to insects are many fungi from *Zygomycota*, *Ascomycota*, *Oomycota* and *Chytridiomycota* orders. Some of them can be allergenic to humans also. The association of fungi and insects has been verified by several authors, and it has been noticed that, in general, the experiments conducted with dipterans use fungal species that were not originally isolated from gnats. Investigations on enzymatic activities of enthomopathogenic fungi have indicated that hydrolytic enzymes may be main agents in infection processes, by degradation of proteins, chitin and lipids building insect cuticle. Enthomopathogenic fungi penetrate body of host insects by action of three enzyme types – proteases, chitinases and lipases. Sequences and levels of these enzymes are species specific also. Almost all enthomopathogenic fungi during growth on medium with chitin (or all-insect-powder) addition secrete relatively big quantities of extracellular proteins and organic compounds, including mycotoxins. Presence of some mycotoxins can be used as marker of fungus presence. During screening of mycotoxins in an environment of work, in old building (diploma work of one student) we have observed the big quantity of dead, "detonated" by enthomopathogenic fungus (*Entomophthora sp.*) and wintering flies. We decided to investigate fungal species on these flies, and mycotoxins produced by them, as potential risk factors in human environment.

We have collected dead and "detonated" by enthomopathogenic fungus (*Entomophthora sp.*) flies during winter period in old buildings. For extraction of proteins, insects were frozen, then homogenized in appropriate solvent, in Potter homogenizer and centrifuged. The obtained crude extracts were submitted to TLC chromatography, to fractionate and identify mycotoxins. Spores collected from "detonated" flies were inoculated to peptone media with addition of chitin. After growth of fungi we determined genus and, if it was possible species of fungus. Petri dishes and flies were documented photographically also.

We have identified in majority of dead and detonated flies fungus *Entomophthora sp.* (*E. muscae* probably), and in some cases fungi from genus *Asperillus*, *Penicillium* and *Mucor*. The best solvent for extraction of mycotoxins from flies was methanol. The best mobile phase was hexane-ethyl acetate- acetic acid system and UV light for visualization. TLC chromatography revealed presence of presumable destruxine from *E. muscae*, some quantities of aflatoxin B₁, ochratoxin A and kojic acid from appropriate moulds, as well as unknown mycotoxin from *Mucor sp.* Only aflatoxins and ochratoxins are of probably danger for humans. But other mycotoxins, of unknown action on human health, should be taken into account also. More detailed interpretations of results are in progress (together with appropriate toxicologists and mycologists).

Grzywnowicz K., Oleszczuk S., Misztal T., Pająk P., Stefaniuk D., Kuske J.

**BIOCHEMISTRY OF DRY ROT FUNGI, IN DIFFERENT CONDITIONS OF GROWTH,
BASED ON INKY CAP *COPRINUS DOMESTICUS***

University of Maria Curie-Skłodowska, M.C. Skłodowska Sq., 3, 20-031 Lublin, Poland

E-mail: grzyw@hermes.umcs.lublin.pl

Many fungi are saprotrophic organisms growing on wood and other, lignin-containing parts of plants. They are including white rot, brown rot, soft rot and litter rot fungi, and dry or wet technical rot fungi, very detrimental for timber used by man. These fungi are quite well investigated as organisms containing such enzymes as hydrolases, oxidases and oxygenases, taking part in degradation of

wood components. But they were not examined as growing in various conditions of wood/timber use. Despite using preservatives of wood and timber used by humans, such fungi as dry rot fungus (*Serpula lacrymans*) and inky caps (*Coprinus spp.*) are serious problem in various conditions and human environments. We decide to compare the growth and biochemistry of inky cap *Coprinus domesticus* on wood/timber in three human environments. The “clean” environment was wooden hurdles in village environment (Dębno Village in Podhale region of Polish Carpathians Mountains), “medium” environment were wooden hurdles in city environment (main street in city of Lublin) and “dirty” environment were mining stanchions (coal mine Bogdanka near Lublin).

We have collected fungi from wood/timber in three human environments. The “clean” environments were wooden hurdles in village environment (Dębno Village in Podhale region of Polish Carpathians Mountains), “medium” environment were wooden hurdles in city environment (main street in city of Lublin) and “dirty” environment were mining stanchions (coal mine Bogdanka near Lublin). Fruit bodies and mycelium with wood substrate were collected separately. For extraction of material, fruit bodies and mycelium with wood substrate were frozen, then homogenized in appropriate buffer, in Potter homogenizer and centrifuged. We determined protein concentration, activity of laccase, peroxidase and tyrosinase (wood degrading enzymes), and proteolytic enzymes and their natural inhibitors (nitrogen metabolism of saprotrophes, and regulation proteolysis system). All experiments were in duplex.

Results have shown significant differences among investigated fungi, growing in various environments. Differences were both in wood degrading enzymes – laccase (detoxifying enzyme, degrading xenobiotics, also), peroxidase or tyrosinase (protecting enzyme, by melanisation, also), and proteolytic system enzymes. In general, high proteases were in dirty environment, high protease inhibitors were in clean environment, wood degrading enzymes were high in clean environment. Extremely high were – laccase in village fruit bodies, laccase in mycelium and wood in mine, and tyrosinase in mycelium in mine. Results are evidently associated with cleanness of environment. And despite the last, all mycelia produced fruit bodies and spores, what means fungi of that strategy of growth are highly adaptive to extreme conditions and stress tolerant. Our investigations have preliminary status, and are continued as possibly method for quick biological/chemical evaluation of wood rotting fungi in various environments.

Olech M., Polit A., Bonarek P., Górecki A., Dziedzicka-Wasylewska M.

FLUORESCENT LABELING OF TFIIB PROTEIN FOR INTERACTION STUDIES

Jagiellonian University, Gronostajowa St., 7, Krakow, Poland

E-mail: andrzej.gorecki@uj.edu.pl

Human transcription factor II B (TFIIB) comprises a part of the RNA polymerase II preinitiation complex, involved in the transcription of messenger RNAs and several small nuclear RNAs. The two-site, asymmetric interaction of TFIIB with the DNA promoter region determines the start site and the direction of transcription, and for this reason is necessary for correct gene expression (Orphanides et al, 1996).

TFIIB protein is a 36 kDa monomer composed of two domains joined by a flexible linker. It can exist in two conformational states, referred to as ‘open’ and ‘close’, depending on the presence of intramolecular interactions between the two domains (Reese, 2003). The conformational change is a presumed basis of the mechanism regulating the binding of DNA to TFIIB, supposed to occur via induced fit. Moreover, numerous transcriptional regulatory proteins shown to bind to TFIIB activate or inhibit transcription initiation by shifting the equilibrium between the two conformers (Roberts, Green, 1994).

The aim of presented study is to obtain a modified TFIIB protein carrying a fluorescent dye, enabling spectroscopic analysis of TFIIB interactions with other constituents of the preinitiation complex: specific DNA sequence and transcription modulator, YY1 protein. Subsequent stages of experiment included production of recombinant protein in a bacterial host, establishing the labeling method and confirming its specificity by time-resolved fluorescence anisotropy and proteolytic digestion followed by HPLC analysis. The obtained labeled protein can be subjected to further various fluorescence experiments.

Acknowledgement:

The research was supported by Grant 3128/P01/2006/31 from the Ministry of Science and Higher Education.

Grzywnowicz K., Wolk M., Pastor P.

**BIOLUMINESCENCE OF HONEY FUNGUS *ARMILLARIA MELLEA* AS BIOINDICATOR
OF ENVIRONMENT POLLUTION**

University of Maria Curie-Skłodowska, M.C. Skłodowska Sq., 3, 20-031 Lublin, Poland

E-mail: grzyw@hermes.umcs.lublin.pl

Many fungi are saprotrophic organisms growing on wood and other, lignin-containing parts of plants. They are containing such groups as white rot, brown rot, soft rot and litter rot fungi, as well as root rot fungi (true parasites). These fungi are quite well investigated as organisms containing such enzymes as hydrolases, oxidases and oxygenases, taking part in degradation of wood components. Bioluminescence is an emission of visible light by living organisms, including fungi, as a result of the oxidation of an organic substrate (luciferin) catalyzed by an enzyme (luciferase), in presence of molecular oxygen. Bioluminescence is observed mainly in agaricoid mushrooms from genus *Omphalotus*, *Mycena*, *Lamptromyces*, *Neonotopanus* and *Gerronema* (mainly fruit bodies), and *Armillaria* (mainly mycelium). It is important to note, that all these mushrooms are connected with wood degradation (saprotrophes or parasites), and bioluminescence of mycelium is less investigated (mycelium is hidden in wood substrate, and mycelium in laboratory conditions is often not bioluminescent). During summer scientific camps of Biochemistry Students Scientific Group we collected some species of fungi, including some strains of *Armillaria mellea*, to examine this problem. Fungi were collected in Podhale region of Polish Carpathians Mountains (near Dębno Village). To determine possibility of using bioluminescence as environment biomarker, it is necessary to qualify influences of growth of fungus, influence of environment factors and similar parameters, on bioluminescence of honey fungus mycelium.

Strains of honey fungus (*A. mellea*) were grown on minimal mineral agar medium to obtain laboratory lines, and then on pine or beech sawdust medium-logged with Fahreus-Reinhard medium, or on this medium alone. Bioluminescence was measured in Lumat LB9507 apparatus (Berthold Technologies), in RLU units, according company methods and methods applied by prof. E. Dermalowicz-Malarczyk (personal information). We investigated an influence of temperature, light, pH and vitamins on bioluminescence of fungus growing such ways. Mycelium was collected at the same time, and experiments were tripled.

Results have shown that bioluminescence was high in mycelium of some strains of *A. mellea* only. Maximum growth of mycelium and first signs of bioluminescence we obtained after 24-30 days of upgrowth. Propitious for bioluminescence of mycelium were temperature 25°C, growth in permanent darkness and in controlled pH 3.5. Pine sawdust was better than other media. Bioluminescence was rather inhibited by vitamins and xenobiotics. Our investigations have preliminary status, but showed possibility of use of bioluminescence of mycelium of *A. mellea* as bioindicator in monitoring of environment pollution by organics and xenobiotics, and for tracking other environment processes. It is also possible to use bioluminescent fungi as kind of biosensors.

Pavlyk J.^{1,2}, Filyak Y.², Filyak O.^{2,3}, Stoika R.²

**LOW DOSES OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR- B1 PROMOTE
ANTITUMOR ACTION OF DOXORUBICIN**

¹*Ivan Franko National University of Lviv*

²*Institute of Cell Biology NAS of Ukraine, Lviv*

³*Department of Ecological Safety, Lviv State University of Vital Activity Safety*

E-mail: Juliet-5@yandex.ru

Doxorubicin (adriamycin) is an anthracycline DNA-damaging anticancer drug, commonly used for treatment of cancer patients. TGFβ1 (Transforming Growth Factor-β1) is a cytokine inhibiting

proliferation of normal and primary transformed epithelial cells. However, high doses of TGFβ1 can promote migration and invasiveness of malignant tumors, inducing metastasis formation. Because of pro-metastatic activity of TGFβ1, it was believed, that blocking of TGFβ-signaling in patients, performed by means of gene-therapy, can facilitate treatment of malignant and metastases-generative tumors. However, complete blockade of TGFβ-signaling in mice led to increased primary tumor formation and increased primary tumors growth (Kulkarni et al.- 1993, Engle et al.- 1999). It allowed speculating that low concentrations of TGFβ1 can be necessary for immune system to fight against the tumor. On the other hand, low concentrations of TGFβ1 were shown to inhibit double-strand breaks DNA repair system (Kanamoto et al - 2002). We presume, that low concentrations of TGFβ1 can inhibit DNA double strand breaks DNA-repair and strengthen anti-tumor activity of DNA damaging drug Doxorubicin.

Here we demonstrated that that TGFβ-1 can enhance cytotoxic (pro-apoptotic) action of doxorubicin towards cultured human lung carcinoma A549 cells. Western-blot analysis and immunocytochemistry were used to show that doxorubicin induced PARP degradation in A549 cells, and TGFβ-1 enhanced that action of the drug. Cell-colonies survival test was used to confirm TGFβ1-induced enhancement of doxorubicin antitumor action with the surviving test 2 weeks after treatment. To identify the molecular mechanisms of low doses of TGFβ1 action upon tumor cells, Western-blotting for caspases, pRb and other cell-death and cell-survival pathways regulative proteins were performed.

The obtained results suggest possible biomodulating effect of TGFβ1 upon tumor cell treatment with doxorubicin. We also proposed possible molecular mechanism of TGFβ1-induced facilitation of Doxorubicin anti-tumor action.

Gnatishina L., Priydan H., Vagelska T., Malanyuk O., Falfushynska H.

**METAL BINDING ABILITY OF METALLOTHIONEINS DURING
THE TRANSPLANTATION OF FRESHWATER BIVALVE *DREISSENA POLYMORPHA*
AND ITS POSSIBLE UTILIZATION IN THE BIOMONITORING OF WATER QUALITY**

National Pedagogical University of Ternopil; 46027, Kryvonosa Str 2, Ternopil, Ukraine

E-mail: lesyafoxy@i.ua

The metallothioneins (MT) represent the marker of the pollution by the heavy metals, since the metal ions in toxic concentrations are able to provoke the elevated expression of these metal-binding proteins in the moiety of the living organisms (Amiard et al., 2006). The considerable variability of MT response under the numerous biological, ecological and genetic factors is revealed in molluscs (Dallinger et al., 2000; Jenny et al., 2006). However, this variability is not widely explored in the biomonitoring purposes and only the measuring of the MT concentration is mostly recommended for that (Amiard et al., 2006). The active monitoring with the exploitation of bivalve molluscs acquired vogue in the recent years to study the effect of pollution on the cellular detoxication systems (Marie et al., 2006) whereas native populations could provide some biochemical adaptations. Therefore the MT in the soft tissues of zebra mussel *Dreissena polymorpha* were investigated during exposures in that the mussels were transplanted from a control site (C) for 14, 28, 60 and 120 days to sites where agricultural pollution (A), alcohol industry (I1) or different manufactures (I2) wastewaters were dominated. MT were obtained as the thermostable proteins and were applied to the anion-exchange liquid chromatography (Brouwer et al., 1995) to measure metal (Cu, Zn, Cd) content in separate forms. The determination of metals in fresh weighted tissues was also carried out.

The peculiarities of each site were devoted to the specific of kind of accumulated metal and were expressed as higher total levels of Cu in mussels from A group (14 and 120 days) and lesser Cu and Zn levels in the mussels from I1 site (28 days) in comparison to C group. On the other hand, the Zn level in the last group of mussels was elevated, even doubled after 60 days of exposure. The Cu levels in the MT were higher in all transplanted groups than in control for exception groups in I1 and I2 sites after 14 days of incubation. Especially high level of MT-bound Cu was reflected at the A site (after 14 and 28 days of the transplantation). The MT-bound Zn content was lesser in the

transplanted groups than in control after 14 days of incubation, especially in I1 group. In the next periods its levels in transplanted mussels was higher (28 days) or closely approximated to control. The content of Cd in the tissues and MT was similar for the groups compared in each period or highest in control group after 120 days of transplantation.

The same higher level of Cd in the site located near the city we observed in the indigenous bivalve mollusc *Anodonta cygnea* despite other indices indicated this site as less polluted and the same elevated Cu level was reflected in MT at the A site (Falfushinska et al., 2008).

To summarise, this study supports the clue of MT of zebra mussel involvement in Cd regulation even under its level in water close to the detection limit. It also demonstrate the importance of analysis of separate metals Cu, Zn, Cd, their composition in MT and comparison to the total content in the tissues to give the prognosis of the environmental effect on mollusc health status. The 14 days of caging was the best period to select the types of the biological responses of *D. polymorpha*.

This work has been granted by Ministry of Education and Science of Ukraine (Ukrainian-French joint collaboration project (EGIDE, PHC DNIPRO 14190ZC) “The assessment of freshwater pollution based on use of metallothioneins of mollusks”.

Szulc K., Jankowska U., Kedracka-Krok S., Dziedzicka-Wasylewska M.

PROTEOMIC ANALYSIS OF AMYGDALA DERIVED FROM RATS EXPOSED TO CHRONIC MILD STRESS AND UPON ADMINISTRATION OF IMIPRAMINE

Jagiellonian University, Gronostajowa St., 7, 30-387, Krakow, Poland

E-mail: kamelia66@wp.pl

Depression is a mental, heterogeneous disorder affecting millions of people each year worldwide. The pathogenesis of this disease is complex and not fully understood. It may include genetic as well as multiple psychological and environmental factors. Investigating the mechanisms of antidepressant drugs therapeutic effects require an animal model of depression. A chronic mild stress model in rats is widely accepted for this purpose. The amygdala is a brain structure that has been associated with such functions as emotion, learning, attention and perception. In patients with depression the amygdala, as the part of the cortical–hippocampal–amygdala circuit involved in emotional processing, appear to be dysfunctional. In this study proteomic analysis has been employed to examine alternations in protein expression in the amygdala of rats manifesting characteristic symptoms of depressive disorders. Two groups of animals were treated with Imipramine (an antidepressant drug) once daily or once a week, the other were stressed and non-stressed control groups. The total protein was extracted from amygdala of rats brains and separated by the 2-dimensional electrophoresis technique providing expression profiles of complex protein mixtures. Staining proteins in gels with SYPRO Ruby fluorescent probe gives an opportunity to identify not only qualitative but also quantitative alternations in protein pattern.

Terletskaya Y.

ACTIVITY OF THE INHIBITOR OF TRYPSIN AND SOME PROTEINASES OF BARLEY WITH GELMINTOSPORIOZE AND THE ACTION OF THE SALICYLIC ACID

Selective- genetic institute - National center of seed growing UAAS

E-mail: biochemist_@ukr.net

It is established that in the processes of the formation of the stability of plants to the action of biotic and abiotic factors the significant role belongs to system proteinase- inhibitors ([Mosolov, 1990). The proteinases of plants take part in such processes as the translocation of proteins, formation of active ferments, hormones, immune response and T. d. ([Lokshina, 1979). The dependence of changes in the proteinase- inhibitor system during the infection by pathogenic microorganisms on the stability of plants to the diseases testifies about the possible participation of ferments in the protective reactions of plants.

It is known that many phenol connections, including salicylic acid, induce the mechanisms of protection, they change the exchange of substances of plants and thus increase their stability to the plants' diseases (Delaney, 1994).

The purpose of this work is to study the protective role of the proteinase- inhibitor system of barley in the pathogenesis and under the effect of salycilic acid.

Studies were conducted on the overground part and the roots of the sprouts of barley, which are distinguished by the stability to the gelmintosporioze. In the work were used 5 types of barley (*Hordeum vulgare* L.): steady - Vakula, Odessa 151; receptive - Vodogray, Vestnik, Eney.

Preliminarily processed by 1 % solution of KMnO_4 and the wet for 12 h in the running water seeds germinated during 6 days with 24 °C on the water (control), on the base, containing 10 mln. conidium /ml of the pathogenic strain *Of bipolaris sorokiniana* shoem (experience 1), and on the base, that contains 2 mm solution of salycilic acid (experience 2). The overground part of the sprouts obtained to the 6th day and roots cut off, froze with -70 °C, lyophilic they dried and ground.

The activity of ferments determined with the aid of the reagent Pholin on the increase in the supernatant liquid of the products of hydrolysis 2% casein (neutral proteinases) and 2% hemoglobin (acid), nonprecipitable by 5% TCA. Proteinases were obtained by the extraction of the ground sprouts 0.2 M NaCl with 4 °C during 30 minutes with the mass-ratio: the volume of extractant 1:40 (for the overground part of the sprouts) and 1:20 (for the roots). The activity of ferments was expressed in nanokatalak on 1 kgf of the lyophilic dried mass of sprouts. For 1 nanokatal assumed the quantity of ferment, which catalyzes formation 1 nmole of tyrosine for 1 sec of the incubation.

The activity of the inhibitor of trypsin was determined on a decrease in the velocity of the hydrolysis of synthetic substratum BAPNA (benzoyl - p - nitroanilide) by ferment in the presence of inhibitor (Levitskiy, 1980). Inhibiting activity was expressed in the grams of the inactivated trypsin on 1 kgf of the dried material.

In the infected 6- day sprouts of barley the activity of neutral proteinases considerably rises in the steady types, in this case it does not occur a noticeable change in the biomass of sprouts, consequently these are the sign not of destruction, but strengthening metabolic activity for activating the protective mechanisms. In leaves of the 6- day sprouts of the resistant to gelmintosporioze types of barley, grown on the base, that contains 2 mm salycilic acid, was noted an increase in the activity of neutral proteinases. At the same time reduction in the activity of the neutral proteinases of experimental plants relative to control is revealed for the receptive types. The activity of acid proteinases in the healthy and infected sprouts of barley was constant, independent of the stability of types to gelmintosporioze. At the same time in the presence of 2 mm salycilic acid only in the sprouts of the steady types of barley was noted an increase in the activity of acid proteinases. Under the effect of salycilic acid in the sprouts of the steady types of barley an increase in the activity of proteinases flowed combined with an increase in the activity of the inhibitor of trypsin.

Thus, it should be noted that salycilic acid and gelmintosporioze infection are the activators of changes in some proteinases and inhibitor of trypsin. The activation of the system of proteolysis in the resistant to gelmintosporioze types of barley under the action of pathogen and salycilic acid flows against the background increase in the activity of the inhibitor of trypsin, independent of nature of operative factor. On the basis this it is possible to make an assumption about the functional interrelation of proteinases and inhibitor of trypsin.

Terletska Y., Vitkovskaya M., Gladys E.

STATE OF THE SYSTEM OF ANTIOXIDANT PROTECTION IN THE ORGANS
OF THE IRRADIATED RATS, THAT HAVE IN THE RATION *SPIRULINA PLATENSIS*

Ilya Mechnikov National University of Odesa

E-mail: biochemist_@ukr.net

At present time in connection with the wide application of technologies, connected with the use of sources of the ionizing emission, by an increase in the quantity of people, which work at the enterprises of atomic energy and industry, is required the development of the new methods of increasing the safety of people, which deal concerning the ionizing radiation. Great significance is given to the study of the mechanisms of the action of small radiation doses, since data relative to their influence are contradictory (Skachek, 2005).

The application of special food additives of natural origin with the wide spectrum of therapeutic and prophylactic action is one of the ways of decreasing the manifestation of effects, caused by the effect of the ionizing emission (Sladkiy, 2003).

The purpose of our work is the determination of the special features of the influence of fractional X-radiation on the antioxidant system in the organs of the irradiated rats, that have in the ration *Spirulina platensis*.

The study of sensitivity to the chronic X-ray irradiation with the feeding by the biomass of spirulina platensis of the strain 198V was accomplished on the white rats, that were divided into 3 groups. The first group was intact. Animals of 2 and 3 groups were exposed to repeated irradiation in the summary absorbed dose of 5 gr. Addition to the fodder of the rats of 3 experiment groups of Spirulina (250 mg of empty weight on the kgf of the mass of body) was began in the week before the first irradiation and achieved daily for the elongation of entire experiment. In this study were used the liver, the kidneys, the heart, the brain, the blood, the plasma and the spleen. Organs homogenized in 0.9% solution NaCl in the relationship 1:10.

The activity of glutathione reductase determined by spectrophotometr with 340 nm on the decrease of concentration NADPH during 3 min and it was expressed in mmole/g tissue*min. With interaction of the restored glutathione with Ellman's reagent is formed the compound (2- nitro - merkaptobenzoynaya acid), painted in the yellow, the intensity of painting of which is proportional to the content of glutathione and it was determined on the wavelength 412 nm.

The obtained results were processed statistically and were built variation numbers.

In our studies on the study of the state of antioxidant system it is shown that the organs of intact animals differ in the activity of glutathione reductase and the content of the restored glutathione. This is caused not only by structure and functions of this organ but also by biochemical processes, which lie at the basis of the carried out functions. Analyzing the obtained by us experimental data on the study of the influence of Spirulina on the oxidation-reduction processes in the tissues of rats during the fractional X-ray irradiation we indicate that the influence is ambiguous. Our studies showed that in the kidneys of animals the content of the restored glutathione and activity of glutathione reductase have maximum value. Kidneys achieve the very important function on the removal of xenobiotics, at basis of which lie oxidation-reduction processes. In the neutralization of the negative action of oxidation processes important role play the transformations of the oxidized glutathione into that restored, which is tightly connected with the activity of glutathione reductase. Thus, our data attest to the fact that the fractional X-ray irradiation affects the relationship of the oxidation-reduction processes of organs and tissues of experimental animals, in particular to the glutathione antioxidant system.

The use of *Spirulina* as the food additive showed that it influences both the content of the restored glutathione and the activity of glutathione reductase in the organs of experimental animals. According to our data, it stimulates the peroxide oxidation of lipids in the liver, the kidneys, the brain and the heart, increases the activity of glutathione reductase in the liver and in the blood.

The obtained results indicate that the use of *Spirulina* against the fractional X-ray irradiation in the larger degree increases the activity of glutathione reductase. Thus, obtained by us experimental data indicate that during the joint introduction of the studied food additive and fractional X-radiation occurs reduction in the intensity of oxidation processes (decrease of the peroxide oxidation of lipids and activity of glutathione reductase) and growth of reducing. This it indicates the possible correction of the metabolic processes, which lie at the basis of the action of small radiation doses. It is possible to speak, that the application of food additives on the base of fractional X-radiation in different ways influences the mechanisms of oxidation-reduction processes, and their combined action leads to the stabilization of the processes of reduction and partial neutralization of oxidation. The biochemical mechanisms, which lie at the basis of the action of food additives very complex and, apparently, relate not only to their transport, binding, removal, but also to the participation in the regulation of biochemical processes at the different levels of organization.

Zdioruk M. 1, Ferens I. 1, Sabadashka M. 1, Brodyak I. 1, Vovk O. 2, Sybirna N. 1

**CHANGES IN THE STRUCTURE OF CARBOHYDRATE DETERMINANTS
OF SIALIC ACIDS IN NEUTROFILIC GRANULOCYTE MEMBRANE
UNDER DIABETES MELITUS TYPE 1**

¹*Ivan Franko National University of Lviv, 4 Grushevsky St., Lviv 79005*

²*Institute of Cell Biology, NAS of Ukraine, 16 Drahomanov St., Lviv 79005*

E-mail : n_zdioruk@hotmail.com

Sialic acid is the group of carbohydrates, derived of N-acetyl neuraminic acid. These acids are mostly localized at terminal residues of N- and O- glycoproteins.

The redistribution or increase of sialic acid in glycoconjugates on plasma membranes of neutrophilic granulocytes is correlated with damage of many cell types in the organism. Variety of sialic glycoconjugates depends on glycoside bond type, which consists of sialic acids with subterminal carbohydrates. In this variety, we can identify sialic acids using the specific lectins and antibodies.

Wheat germ lectin (WGA), binds specifically using N-acetyl- β -D-glucoseamine and N-acetyl neuraminic (sialic) acids. The lectins of *Sambucus nigra*(SNA) and *Maackia amurensis* bind with oligosaccharides containing sialic acids. This lectin shows the highest affinity towards the sequence of Neu N Ac (α 2-6) D Gal / D Gal N Ac, not binding at the same time with Neu N Ac (α 2-3) D Gal/ Dgal N Ac disaccharide residues on cell surfaces.

Disease process in human organism is accompanied by changes in the structure of carbohydrate determinants in glycoconjugates, which modifies cells recognition, aggregation and adhesive abilities of some cells types. The changes in the structure of carbohydrate determinants in glycoconjugates is also present under diabetes mellitus.

The goal of this work is researching the changes in the structure of carbohydrate determinants of sialic acids in neutrophilic granulocyte membrane under diabetes mellitus type 1.

In our work we used three lectins : WGA, SNA and MAA which are specific to the sialic acids.

The general determination of sialated glycoconjugates was conducted using WGA lectin and the differentiation of various types of sialic acid bonds with subterminal carbohydrates was carried out using lectin of *Sambucus nigra* (SNA; identifies (α 2-6) bonds) and *Maackia amurensis* lectin (MAA; identifies (α 2-3) bonds).

After the usage of MAA lectin, NG aggregation abilities under type 1 d.m. decreased, accompanied by the lowering of cell aggregation levels and velocity. Such lowering in neutrophilic leucocyte aggregation is caused by the fact that under type 1 d.m. the structure of neutrophilic membrane glycoprotein receptors contains small quantities of sialic acids linked by (α 2-3)- glycosidic bonds, which influences both dynamic and kinetic indices of the NG aggregation process. The achieved results also indicate the fact that under the pathology the (α 2-6) sialisation process of leucocyte glycoproteins undergoes certain changes. The change in quantity of sialic acids linked by (α 2-6)-glycosidic bonds was correlated with the disease duration: the quantity of N-acetylneuramine containing glycoconjugates on neutrophilic granulocyte surfaces increases in patients with the disease up to five years, but their quantity reliably decreases in patients with the disease over ten years. Thus, the pathology was accompanied by the increase in bounding sites for SNA in the binding of the pathology, which indicates the replacement of (α 2-3)- linked sialic acids by (α 2-6)-linked acids, perhaps caused *de novo* in the cells as a result of changes in quantity or in activity of (α 2-6)-sialictransferase.

The achieved results give us the possibility to suggest the differential method for the identification of diabetes mellitus complications, depending on the disease duration.

(The research has been supported by *Science and Technology Center in Ukraine*, 2008-2010)

ГЕНЕТИКА ТА БІОТЕХНОЛОГІЯ / GENETICS AND BIOTECHNOLOGY

Аравіцька О., Грубський Я., Миколаїв О., Громико О., Федоренко В.

ВПЛИВ МУТАГЕННОЇ ОБРОБКИ НА АНТИБІОТИЧНУ АКТИВНІСТЬ
ШТАМУ-ПРОДУЦЕНТА СІОМІЦИНУ *STREPTOMYCES SIOYAENSIS*

Львівський національний університет імені Івана Франко,

вул.Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

E-mail: aravicka@rambler.ru

Streptomyces sioyaensis LV81 – продуцент вторинного метаболіту сіоміцину. Це тіопептидний антибіотик, активний щодо широкого спектру грам-позитивних бактерій, а також до деяких ліній пухлинних клітин, що на даний час використовуються у ветеринарній медицині. Тому актуальною є проблема розробки методів для отримання штамів з підвищеним рівнем біосинтезу нових похідних сіоміцину

Ми вивчили вплив ультрафіолетових променів (УФ), N-метил-N'-нітро-N-нітрозогуанідину (НГ) та N-метил-N-нітрососечовини (НМС) на антибіотичну активність штаму *S.sioyaensis* LV81. Спори *S.sioyaensis* обробляли УФ протягом 40–150 с. Після опромінення спор протягом 40 с виживало 8,0%, збільшення часу обробки до 120-150 с знижувало виживання спор до 0,2-0,03% відповідно. В експерименті по підборі мутагенної дози НГ в розчині 7 мг/мл на протязі 15 хв виживало 30% спор, при обробці спор протягом 20-30 хв виживання падало до 20-3,5%. Спори штаму інкубували в 3% розчині НМС протягом 3, 4 і 5 год. На третій годині обробки виживання становило 25%, при підвищенні часу до 4 год виживання спор знижувалось до 0,2%, і після п'ятигодинної інкубації виживало $0,3 \times 10^{-3}$ % спор штаму.

Ми дослідили вплив опромінення спор УФ та обробки НГ і НМС на антибіотичну активність *S. sioyaensis*. Опромінення спор протягом 90 с спричинило незначне зменшення середнього індексу продуктивності (ІП) до 98%, порівняно з показником неопроміненої культури. Частка «плюс»-варіантів збільшилась удвічі (9,3%), а частка «мінус»-варіантів у три рази (4,9%) порівняно з контролем. УФ-опромінення штаму протягом 120 с підвищило середнє ІП отриманих клонів до 117,3%. Тут кількість «плюс»-варіантів склала 15,3%, що в 3 рази перевищує контрольний показник, «мінус»-варіантів в даній вибірці не було. Коефіцієнт варіації становив 44,1%.

Після інкубації спор в розчині НГ (7 мг/мл) протягом 15 хв, середнє значення ІП клонів на 40% перевищило значення контрольного показника, частка «плюс»-варіантів зросла до 26,2%, «мінус»-варіантів у вибірці не спостерігається. При збільшенні часу обробки до 20 хв ІП не відрізнялось від контрольного показника, частка «плюс»-варіантів склала 11,3%, частка «мінус»-варіантів збільшилась в 10 разів порівняно з контролем. Коефіцієнт варіації $C_v=49,0\%$. Збільшення часу обробки до 30 хв призводить до зменшення кількості «плюс» - та збільшення «мінус» - варіантів, а також зниження середнього значення індексу продуктивності.

Середнє значення ІП клонів, отриманих після обробки 3% розчином НМС протягом 4 год. становило 109,6%, кількість «плюс»-варіантів збільшилось до 9,3%, натомість кількість «мінус»-варіантів зменшилась порівняно з контролем на 60% і становила 0,6% від загальної кількості клонів. Коефіцієнт варіації дорівнював 43,3%.

Отже, з огляду на отримані дані, для подальшого пошуку індукованих мутантів штаму *Streptomyces sioyaensis* LV81 оптимальними мутагенними дозами можна вважати опромінення спор УФ протягом 120 с, обробку НГ в концентрації 7мг/мл протягом 15 хв та інкубацію 3% розчином НМС на протязі 4 год.

Баранов Ю., Кожухова Н.**ПЛР-ДЕТЕКЦІЯ *ALTERNARIA* SPP. В НАСІННІ КУКУРУДЗИ***Південний біотехнологічний центр в рослинництві УААН**Овідіопольська дорога, 3, м. Одеса, 65036, Україна**E-mail: natavolk@rambler.ru*

У всіх зерносіючих країнах світу швидко зростає рівень ураження посівів і зерна токсигенними грибами. Особливу небезпеку представляє альтернарія, яка щорічно уражує більш 60 % насіння. Інфікування кукурудзи грибами роду *Alternaria* є причиною значних економічних втрат в результаті зниження врожайності, гігієнічної небезпеки для людини та сільськогосподарських тварин внаслідок виділення мікотоксинів і зменшення технологічної якості зерна. Метою нашого дослідження є розробка ДНК-технології діагностики ураженості насіння кукурудзи грибами роду *Alternaria*.

Для виявлення та ідентифікації роду *Alternaria* та дрібноспорових видів *A. alternata*, *A. tenuissima*, *A. arborescens*, а також видів *A. infectoria*, *A. brassicae* в насінні кукурудзи підібрано систему молекулярних маркерів, що генеруються в процесі полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Проведено оптимізацію умов ПЛР для ампліфікації родо- та видоспецифічних ділянок геному альтернарії на основі послідовностей внутрішніх спейсерів ITS1 та ITS2, що транскрибуються та гена 5,8S рибосомальної ДНК.

Чутливість та специфічність перевіряли на зразках чистих культур вищенаведених видів альтернарії та видів роду *Fusarium* (*F. moniliforme*, *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. subglutinans*). Фрагменти ампліфікації певної довжини, а саме 340 п.н., 327 п.н., 780 п.н., отримано при ПЛР-аналізі ДНК відповідного виду альтернарії. Відсутність продуктів ампліфікації відмічено при ПЛР-аналізі ДНК фузаріумних грибів. Рівень чутливості в двохкомпонентній системі (суміш ДНК гриба і кукурудзи) дозволяв детектувати грибку ДНК на фоні стократної кількості ДНК кукурудзи.

Для скринінгу ураженості насіння кукурудзи грибами роду *Alternaria* створено колекцію зразків насіння ліній та гібридів врожаю різних років (2006-2008 рр.) та з різних центрів селекції цієї культури (Одеська та Дніпропетровська області), а також зразків ґрунту з полів, на яких вирощували кукурудзу. Проведено ізоляцію грибів в чисту культуру для подальшого тестування наявності грибів роду *Alternaria*.

Таким чином, діагностична процедура ПЛР-детекції грибів роду *Alternaria* в насінні кукурудзи дозволить швидко та ефективно виявляти ураженість зерна альтернаріозом (без візуальних симптомів захворювання) та своєчасно здійснити захисні заходи при закладанні зерна на довгострокове зберігання.

Барбул О.**АНТИЦИПАЦІЯ ПРИ УСПАДКУВАННІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ***Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна**пл. Свободи, 4, м. Харків, 61077, Україна**E-mail: hazelhen15@gmail.com*

Антиципація (від лат. *anticipatio* - передбачення) - передчасна поява спадкового захворювання в нащадках в порівнянні з батьківським поколінням. Феномен антиципації полягає в тому, що захворювання, що є присутнім у предка, у нащадка проявляється в більш ранньому віці. Облік ефекту антиципації при мультифакторних спадкових захворюваннях дасть можливість виявляти групи ризику серед потомства пробандів та очікувати в них більш ранній початок захворювання. Знання про високий генетичний ризик для потомства дозволить запобігти або частково пом'якшити захворювання та його можливі ускладнення шляхом профілактичних заходів. Цукровий діабет відноситься до захворювань мультифакторної природи, тому що в основі його розвитку лежать як генетичні, так і фактори зовнішнього середовища (Балаболкін М. И., 1983).

Популяційно-генетичні дослідження дозволили розрахувати коефіцієнт спадковості – внесок генетичних факторів у розвиток ЦД, що складає 0,6-0,7 (Сергєєв О. С., 1986). Для виявлення "загрозливих родоходів" необхідно проводити комплексне медико-генетичне обстеження хворого. При генеалогічному обстеженні пацієнтів терапевтичного відділення клініки ГУ "Інститут ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського" у родоходах був виявлений ефект антиципації. Опитування хворих на цукровий діабет 2 типу проводилося за спеціально розробленою анкетною, питання якої спрямовані на виявлення всіх захворювань серед родичів пробандів. Була проаналізована генеалогічна інформація 245 пробандів, серед яких у 100 ядерних родин (40,8%) цукровий діабет 2 типу був у батьків і нащадків. У восьми ядерних родин (3,3%) у батьків із цукровим діабетом 2 типу були нащадки із цукровим діабетом 1 типу. Були сформовані родинні пари батько-нащадок, у яких обидва члени були хворі цукровим діабетом. З урахуванням статі родичів були досліджені пари мати-дочка, мати-син, батько-дочка, батько-син. У кожному випадку враховували вік маніфестації захворювання й обчислювали внутрішньопарну різницю. В 87,9% випадків спостерігався ефект антиципації - більш ранній початок захворювання в нащадка порівняно з батьками. Усього було сформовано 76 пар мати-нащадок та 24 пари батько-нащадок. При наявності хворої матері антиципація проявляється частіше, ніж при наявності хворого батька. В 91,3% пар мати-нащадок та 78,6% пар батько-нащадок виявився ефект антиципації ($p < 0,05$). Можна вважати, що у випадку антиципації має місце добре відомий у генетиці материнський ефект, що може бути обумовлений внутрішньоутробним впливом. У парах батько-дочка й батько-син, антиципація виявилася в 83,4 й 90,4% випадків відповідно. У групах пар син і мати-дочка ефект антиципації спостерігається в 87,2 й 87,8% випадків. Істотне розходження співвідношення віку маніфестації спостерігається в групах пар син і дочка. Ранній вік маніфестації цукрового діабету спостерігається в 90,9% випадків серед пар батько-син та в 70,6% випадків серед пар батько-дочка. Можливо, у цьому випадку є якийсь вплив Y-хромосоми. У нащадків цукровий діабет 2 типу проявляється раніше, ніж у батьків у середньому на 12,7 років, що може враховуватися в практиці сімейних лікарів. Необхідно також урахувати, що антиципація більш ймовірна, якщо хвора матір, ніж якщо хворий батько.

Безродна А.

ЕТНО-ГЕОГРАФІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПСОРІАЗУ

Харківський національний університет ім. В.Н.Каразіна

пл. Свободи 4, м. Харків, 61077, Україна

E-mail: bezrodny_a@mail.ru

Актуальність етно-географічних досліджень мультифакторіальних захворювань обумовлена динамікою ряду показників, наприклад, урбанізації населення. На даний показник суттєво впливають ефекти інбридингу та аутбридингу, відбувається зміна структури шлюбів, що в свою чергу тягне за собою зміну популяційних частот і ступеня тяжкості багатьох моногенних і мультифакторіальних захворювань.

На сучасному рівні знань псоріаз визначають як мультифакторіальне захворювання, яке успадковується за аутосомно-домінантним типом з ефектом головного гена з неповною пенетрантністю (60%).

За даними етно-географічних досліджень проведених на Харківській популяції підраховано, що частота хворих псоріазом становить у середньому 0,71%, що є досить високе значення. Поряд з цим відомо, що важливу роль у розвитку псоріазу відіграє структура шлюбу, а саме: ступінь екзогамії батьків. Цей генетико-демографічний параметр використовують для аналізу характеру успадкування хвороби. Екзогамія першого ступеня відмічена у пробандів, батьки яких походять із одного населеного пункту, екзогамія другого ступеня - у пробандів, батьки яких походять із однієї області (зокрема, Харківської), третій ступінь – батьки народились на Україні, четвертий ступінь – батьки народились за межами України. У зв'язку з цим, актуальним залишається вивчення впливу демографічних, етнічних та географічних показників на частоту та особливості успадкування псоріазу.

Збір первинної інформації проводили методом одиничної реєстрації пробанда на базі Харківського обласного клінічного шкірно-венерологічного диспансеру. Проаналізована інформація про 223 пробандів, серед них чоловіків 114 (51%) у віці від 20 до 91 року, жінок 109 (49%) – від 25 до 70 років. Збір первинної інформації про хворих, які увійшли до контрольної групи проводився на базі 13-ї міської клінічної лікарні. Була проаналізована інформація про 219 пробандів, серед яких 109 (49%) чоловіків у віці від 18 до 78 років, жінок - 110 (51%) – від 20 до 83 років. Статистична обробка даних проводилась загальноприйнятими методами, використовувалася t-критерій Стюдента, кутова трансформація Фішера з введенням поправки Йейтса.

Результати дослідження показали екзогамію першого ступеня у 13,9 % хворих псоріазом та 6,0% в контрольній групі ($p>0,05$), екзогамію другого ступеня – у 48,9 % хворих псоріазом та 49,8% в контрольній групі ($p>0,05$), екзогамію третього ступеня - у 30,5 % хворих псоріазом та 28,7% в контрольній групі ($p>0,05$), екзогамію четвертого ступеня - у 6,7% хворих псоріазом та 15,5% в контрольній групі ($p>0,05$).

Вивчення ступеня екзогамії пробандів хворих псоріазом дає можливість дослідити механізми розвитку даного захворювання, прогнозувати виникнення його проявів у нащадків залежно від типу шлюбу та проведення первинної профілактики для генетично схильних людей, використовуючи даний показник з метою ранньої діагностики.

Автор висловлює щиру вдячність науковому керівнику: професору кафедри генетики та цитології ХНУ ім. В.Н. Каразіна Л. О. Атраментовій та доценту кафедри генетики та цитології ХНУ ім. В.Н. Каразіна О. М. Федоті.

Боднар І., Боднар Л.

ВПЛИВ РІДКИХ ТОКСИЧНИХ ВИКИДІВ ВАТ “ОРІАНА” МІСТА КАЛУША ІВАНО-ФРАНКІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ НА ГЕНОТОКСИЧНІСТЬ ПРИРОДНИХ ВОДОЙМ

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

Техногенний прес, наслідком якого є забруднення атмосфери, поверхневих вод, ґрунтів та інших компонентів екосистеми, зумовлює порушення рівноваги в навколишньому середовищі і викликає численні генетичні зміни в генофондах популяції. На основі літературних даних встановлено, що на території Івано-Франківської області існує високий рівень хімічної небезпеки, зумовлений наявністю на її території 53 хімічно небезпечних об'єктів, на яких зберігається або використовується у виробничій діяльності близько 11500 тонн сильнодіючих отруйних речовин (СДОР). Одним з найбільших промислових забруднювачів є ВАТ “Оріана” – великий багатогалузевий хімічний комплекс, концерн, який об'єднує 10 самостійних заводів. Метою даної роботи було визначити сумарні мутагенні фони промислових рідких токсичних відходів з відкритого акціонерного товариства “Оріана” за допомогою генотоксичних тест-систем.

Матеріалом досліджень служили зразки стічних вод ВАТ “Оріана” після очистки, які відібрані з р. Млинівка в центрі м. Калуш і з р. Сівка в с. Войнилів Калуського району, куди стікає відстояна вода. Р. Сівка є притокою Дністра, куди й потрапляють в результаті ці стоки. Відбір проб з водойм проводили на глибині 0,2-0,3 м від поверхні води по 100 мл приблизно через кожні 10 м вздовж течії.

Метод домінантних летальних мутацій у *Drosophila melanogaster* показав значний мутагенний вплив досліджуваних зразків води, що виявляється в перевищенні частоти виникнення домінантних мутацій приблизно в 5 разів порівняно з контролем. В тесті Еймса на обох штаммах *Salmonella typhimurium* проявлялась мутагенність слабкої сили, проте на штамі *S. typhimurium* TA 100 при дослідженні проб з р. Сівка спостерігалось перевищення кількості колоній ревертантів більше, ніж у 8 разів. Не виявлено індукції хромосомних аберацій при дослідженні зразків в тесті на *Allium cepa*. Мітотичний індекс для зразка з р. Сівки коливався приблизно на одному рівні з контролем, тоді як для проби з р. Млинівки перевищував майже вдвічі контрольні дані, що свідчить про затримку клітин в мітозі. Підраховано також фазовий індекс, що дозволяє робити висновки про зміну в співвідношенні фаз мітозу. Для проби з р.

Млинівки характерно збільшення відносної тривалості профазы, що може відбуватися за рахунок пришвидшення процесів синтезу в інтерфазі або за рахунок продовження профазы.

Бурцева Г.

СХЕМА ІДЕНТИФІКАЦІЇ ТА ВІДБОРУ СТАФІЛОКОКІВ ПЕРСПЕКТИВНИХ У ВИРОБНИЦТВІ ФЕРМЕНТОВАНИХ М'ЯСНИХ ПРОДУКТІВ

Технологічний інститут молока та м'яса УААН

Державний науково-дослідний центр з проблем гігієни харчування

вул. М. Раскової, 4а, м. Київ, 02660, Україна

E-mail: kigel@timk.kiev.ua

Промислове виробництво ферментованих м'ясних продуктів базується на використанні спеціальних бактеріальних препаратів, що надає можливість стандартизувати та контролювати кінцевий продукт. Підбір культур для створення такого препарату кропіткий багатостадійний процес. На думку вчених, оптимальний заквашувальний препарат для м'ясного ферментованого продукту має складатися з молочнокислих бактерій (гомоферментативних лактобацил і/або педіококів) та грам-позитивних каталазопозитивних коків, серед яких найперспективнішими вважаються непатогенні стафілококи, оскільки, доведено, що саме для цих мікроорганізмів спектр біохімічної активності ширший. Завдяки нітратредукуючій, каталазній та супероксиддисмутазній активностям, коагулазонегативні стафілококи впливають на формування і стабільність бажаного червоного забарвлення продуктів та запобігають надмірному окисленню жирів; внаслідок дії протеаз та ліпаз утворюються різноманітні ароматичні субстанції та низькомолекулярні сполуки, які відіграють визначальну роль в утворенні смаку і аромату, при-таманного власне ферментованим м'ясним виробам.

Метою роботи були пошук перспективних штамів стафілококів, дослідження їхньої біологічної безпеки та технологічних властивостей. Із мікрофлори ферментованих м'ясних продуктів непромислового виробництва вилучено 48 штамів грам-позитивних каталазопозитивних коків, які були досліджені за наступним тристадійним алгоритмом. Перша стадія: ферментація глюкози в анаеробних умовах, окислення гліцерину на середовищі з еритроміцином, випробовування діагностичною системою "Діастаф", тест на наявність коагулази, нітратредукуюча активність – відібрані коагулазонегативні стафілококи здатні до нітратредукції. Друга стадія: вивчення властивостей - культуральних (ріст при різних температурних режимах, на глюкозному та м'ясо-пептонному бульйонах з рН 5,0, 8,3, 9,2, 9,6; на глюкозному бульйоні з вмістом NaCl 4%, 6%, 10%, 15%; інтенсивність росту) та біохімічних (здатність до ферментації ксилози, арабінози, манітолу, трегалози, мальтози, сахарози, лактози, галактози, маннози, фруктози, рибози, ескуліну, орнітину, наявність аргініндегідролази, лужної фосфатази, уреазы, ДНКазы, β-глюкуронідази, β-галактозидази, здатність до розрідження желатину). При визначенні біохімічних особливостей проводили порівняння результатів, отриманих із застосуванням середовищ власного приготування, планшетного набору STAPHYtest 16 (PLIVA-Lachema Diagnostika s.r.o., Чехія), та дисків фірми Himedia Ltd. (Індія). Третя стадія: кількісне оцінювання нітратредукуючої, протеолітичної, ліполітичної, ароматичної, каталазної активності, популяційної стабільності штамів.

В результаті відібрано 4 штами стафілококів для наступних стадій досліджень: біотехнологічної та остаточного визначення безпеки для здоров'я людини.

Винокурова К.

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСУ АСОЦІЮВАННЯ ПРИ ПСОРІАЗІ

Харківський національний університет ім.В.Н.Каразіна

пл. Свободи 4, м. Харків, 61077, Україна

E-mail: lorepy@mail.ru

Псоріаз відноситься до хронічних рецидивуючих захворювань мультифакторіальної природи, часто асоціюється з іншими захворюваннями.

Актуальність генетичних досліджень псоріазу, зумовлена його високою частотою серед населення, при частих сімейних випадках. Все це вказує на необхідність генетичного консультивання для формування груп ризику з метою проведення первинної профілактики.

Важливим напрямком виступає отримання і використання генетичних оцінок, маркерів і асоціацій псоріазу з іншими захворюваннями, а також аналіз можливих механізмів, що його спричиняють, який не тільки поглиблює розуміння генетичної природи захворювання, але і являється складовою частиною клініко-генетичного моніторингу. Актуальним є дослідження даних показників у хворих на псоріаз.

Збір первинної інформації проводився методом одиничної реєстрації пробанда і ретроспективного вивчення історій хвороб на базі ХОКШВД (голов. лікар, проф. П. П. Рижко). Фенотипи пробандів оцінювались за висновками лікарів та при вивченні медичної документації. Проаналізовано генеалогічну інформацію про 313 пробандів диспансерної групи хворих на псоріаз, до її складу входять 184 (58,8 %) жінки у віці від 25 до 70 років і 129 (41,2 %) чоловіків у віці від 20 до 91 року. Статистична обробка даних проводилась загальноприйнятими статистичними методами.

Результати дослідження показали, що у чоловіків (3,7%) і жінок (3,4%) хворих псоріазом, захворювання серцево-судинної системи зустрічаються рідше, ніж в популяції ($p < 0,05$). А захворювання шлунково-кишкового тракту (33,8%) і хронічні фокальні інфекції (32,4%) у жінок і у чоловіків, хворих на псоріаз, зустрічаються частіше ($p < 0,05$), ніж в популяції, що можна відносити до факторів ризику для псоріазу. Наявні в літературі дані свідчать, про негативний, обтяжуючий і провокуючий вплив на псоріаз різноманітних супутніх захворювань, на характер його прояву і результати лікування. Оскільки у хворих псоріазом крім змін шкіри, кістково-суглобного апарату, спостерігаються функціональні зміни внутрішніх органів, то, для профілактики стану хворих з ними та з їхніми родичами проводиться індивідуальна робота. Тому, правильне її планування і проведення дозволить запобігти початку і прогресуванню важкості захворювання, психологічного дискомфорту, пов'язаного з дерматозом.

Автор висловлює вдячність головному лікарю ХОКШВД, проф. П. П. Рижко; лікарю-дерматологу, к.м.н. В.М.Воронцову; науковому керівнику: професору кафедри генетики та цитології ХНУ ім.В.Н.Каразіна Л. О. Атраментовій та доценту кафедри генетики та цитології ХНУ ім. В.Н. Каразіна О. М. Федоті.

Волкова Н., Філіпоненко Н.

АНАЛІЗ ПОКАЗНИКІВ СТАТЕВОЇ ПОВЕДІНКИ ЛІНІЙ *DROSOPHILA MELANOGASTER*, ОТРИМАНИХ З ПРИРОДНИХ ПОПУЛЯЦІЙ З РІЗНИМ РІВНЕМ РАДІОАКТИВНОГО ЗАБРУДНЕННЯ

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

Пл. Свободи 4, м. Харків, 61077, Україна

E-mail: volkova_natalya@bk.ru

Метою даного дослідження було вивчити розбіжності за ознаками статевої поведінки між лініями *Drosophila melanogaster*, які отримані з природних популяцій з територій з різним рівнем радіаційного забруднення та проаналізувати можливий зв'язок між окремими ознаками. Матеріал для дослідження: лінії Озеро 1, Озеро 2, Озеро 3 (популяція водойми-охолоджувача ЧАЕС; 2100 мкР/год; 2005, 2006, 2007 рр.); Яблуневий сад (м. Чорнобиль; 100 мкР/год; 2007 р.); Поліське (м. Поліське; 50 мкР/год; 2007 р.); Магарач (винзавод "Магарач", АР Крим; умовний контроль: радіаційний фон у межах норми). Лінії отримані та надані для дослідження к.б.н., доц. Козерецькою І.А. (Київський національний університет імені Тараса Шевченка). Всі дослідження були проведені у період весна-літо 2008 р. Вивчали такі показники: статеву активність самців, статеву рецептивність самиць, затримка копуляції (для кожної пари – ЗК; для першої пари у групі – ЗК1; середня по групі – ЗК сер.), тривалість копуляції (для кожної пари – ТК; для першої пари у групі – ТК1; середня по групі – ТК сер.). Визна-

чення часових характеристик парування проводили з урахуванням умов конкуренції: залежно від умов надлишку самиць чи самців. Оцінювали середнє значення показників та їх похибки. Вплив генотипу та фактору конкуренції визначали за допомогою дисперсійного аналізу кількісних ознак, а зв'язок між показниками - коефіцієнту кореляції Пірсона.

Доведена залежність від генотипу всіх досліджуваних показників. Найвищі статеві активність самців та статеві рецептивність самиць (до 100 %) характерні для лінії Озеро 1. Для цієї ж лінії характерна найбільша тривалість акту копуляції. Достатньо високими значеннями показників статевої активності самців та статевої рецептивності самиць характеризується лінія Магарац. Для обох зазначених ліній показана незалежність часових характеристик парування від умов конкуренції. Для лінії Поліське встановлено, що в умовах надлишку самців дещо збільшується затримка копуляції (як ЗК1 так і ЗК сер.) та знижується тривалість копуляції. А для ліній Яблуневий сад, Озеро 2 та Озеро 3 в умовах надлишку самців спостерігається зниження ЗК1 та ЗК сер. при незмінному рівні тривалості копуляції. При цьому найменш активними є лінії Поліське та Озеро 3. Для показників ЗК та ТК встановлено вплив генотипу лінії ($F=21.88$; $p<0.001$ та $F=22.9$; $p<0.001$, відповідно) та його взаємодії з фактором конкуренції ($F=6.23$; $p<0.001$ та $F=3.05$; $p<0.01$, відповідно). Для інших часових характеристик парування не доведено впливу конкуренції.

Незалежно від умов конкуренції практично для всіх досліджуваних ліній спостерігається зворотній зв'язок між показниками ЗК та ДК ($r = -0.63$ - -0.93 ; $p<0.001$), тобто тим парам, які швидше вступили у парування властивий більш тривалий акт копуляції. Така сама тенденція спостерігалась при вивченні ліній дикого типу та мутантних, які тривалий час утримувались в культурі (колекційні) (Волкова, 2007). Встановлено також, що, за винятком певних випадків, показники статевої активності особин зворотно пов'язані з затримкою копуляції (ЗК1 та ЗК сер.) та прямо - з її тривалістю (ТК1 та ТК сер.). Аналогічне було встановлене раніше для колекційних ліній (Волкова, 2007). Показано, що ЗК1, як правило, прямо пов'язана з ЗК сер., причому незалежно від умов конкуренції за статевий партнер, що ще раз доводить існування (встановленого для колекційних ліній (Волкова, 2007)) стимуляційного ефекту при паруваннях у групі. За винятком лінії Магарац, аналогічна тенденція спостерігається для ознак ДК1 та ДК сер., причому для ліній Поліське, Озеро 1, Озеро 2 та Озеро 3 зв'язок сильніший в умовах надлишку самців. Це означає, що завершення акту копуляції першої пари може бути певним стимулом до її завершення іншими парами. Більш того, ефект підсилюється, якщо існує конкуренція за самицю.

Дослідження виконане під керівництвом к.б.н., доц. Воробйової Л.І.

Гавілей Н., Полтавська Г.

ПОПУЛЯЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ БУЛЬОЗНОГО ЕПІДЕРМОЛІЗУ

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

пл. Свободи, 4, м. Харків, 61077, Україна

E-mail: auffallend@ukr.net

Буллезний епідермоліз (БЕ) - це група генодерматозів, що проявляються в утворенні пухирів на шкірі і слизових оболонках у місці стискання чи травми, при нагріванні чи спонтанно. Це один з найбільш важких дерматозів, що призводить до інвалідності або летальності. Виявлено клінічний поліморфізм і генетичну гетерогенність захворювання; описано форми із різними типами спадкування: аутосомно-домінантні, аутосомно-рецесивні, рецесивні та зчеплені зі статтю (П.П. Рижко, 2004).

За даними Центрального статистичного офісу DEBRA - International (2008) у світі існує приблизно 338670 хворих на БЕ, домінантні форми зустрічаються із частотою 1:32000, важкі рецесивні - із частотою 1:700000. В залежності від клінічного прояву, результатів гістологічного та молекулярно-генетичного аналізу, розрізняють три групи БЕ: епідермолітичний (ЕБЕ), сполучнотканинний і дистрофічний (ДБЕ) (Суворова К.Н., 1977).

До недавнього часу генетичні дослідження БЕ в Україні не проводились, тому їх актуально розпочати з визначення популяційної частоти і створення реєстру хворих, що і було метою нашої роботи.

На базі ХОКШВД №1 зібрано первинну інформацію про дев'ятьох хворих методом одиничної реєстрації пробанда. Фенотипи пробандів і їх родичів оцінювались за висновками лікарів та при вивченні медичної документації.

Отримано генеалогічну інформацію про трьох хворих на ДБЕ, що не мають родинних зв'язків та їх 22 родичів I та II ступеню спорідненості. Усі пробанди мають середній ступінь екзогамії, батьки пробандів є корінними мешканцями Харківського регіону. Батьки, прабадьки, сибси, напівсибси, двоюрідні, троюрідні сибси та інші родичі такого захворювання не мають. Аналіз родоводу і клінічних проявів патології дозволяє зробити висновок, що пробанди хворі на аутосомно-рецесивний ДБЕ, тип Аллопо-Сименса (Ortiz-Urda S., 2003). Описано трьох чоловіків, хворих на БЕ типу Вебера-Коккейна, двоє з яких - батько і син та один чоловік, що не має з ними родинних зв'язків (Jonkman M.F., 2000). Також виявлено дві особи, що хворіють на БЕ типу Кобнера – батько й син, причому їх 16 родичів I та II ступеня спорідненості цього захворювання не мають (Bonifas J.M., 1991). В цих випадках у пробандів аутосомно-домінантний ЕБЕ. Отже, частота ЕБЕ в Харківському регіоні складає 1:300000 осіб, а ДБЕ - 1:500000, що відповідає даним світової літератури (П.П. Рижко, 2008).

Висловлюємо подяку науковому керівнику: доц. каф. генетики та цитології ХНУ ім. В.Н. Каразіна О. М. Федоті, гол. лікарю ХОКШВД №1, проф. П. П. Рижко та к.м.н., лікарю-дерматологу ХОКШВД №1 В.М. Воронцову.

Гайда Г.¹, Клепач Г.^{1,2}, Німилович М.

**ВИДІЛЕННЯ І ХАРАКТЕРИСТИКА ГЛІЦЕРОЛОКСИДАЗИ
ПЛІСЕНЕВОГО ГРИБА *BOTRYTIS ALLII***

¹ Інститут біології клітини НАН України вул.

вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005, Україна

²Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка вул. В. Івасюка, 11,

м. Трускавець, 82200, Україна

E-mail: pavlishko@yahoo.com.ua

Гліцерол є важливим аналітом для біотехнології та медицини. Визначення вмісту гліцеролу має важливе практичне значення для технологічного контролю процесів бродіння при виробництві алкогольних напоїв, для контролю якості марочних вин, у клінічній діагностиці при обстеженні людей на вміст тригліцеридів у крові, який є обов'язковим діагностичним показником стану функціонування органів. Крім того, гліцерол широко використовують у виробництві вибухових речовин, синтетичних смол, косметичних засобів, лікарських препаратів.

Існуючі на сьогодні аналітичні ферментативні методи для визначення вмісту гліцеролу є достатньо дорогими та практично недосяжними для вітчизняного споживача при їх повсякденному використанні у лабораторії, чи недостатньо селективними (Worthington Product Catalog). Тому розробка та впровадження нових аналітичних тест-систем на основі гліцеролоксидази (ГО) дозволили б значно знизити собівартість визначення вмісту гліцеролу. ГО, на відміну від ферментів, які використовуються для аналізу гліцеролу, не потребує екзогенного коф-актора, і, до того ж, каталізована нею оксидазна реакція є необоротною (Uwajima, 1982).

ГО - фермент, виявлений і виділений з цвільових грибів родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Neurospora*, *Botrytis*, а також з актиноміцетів (Uwajima, 1979; Uwajima, 1980). Проте відповідний комерційний препарат ферменту відсутній на світовому ринку біотехнологічних продуктів. Тому отримання препарату ГО із попередньо відібраного нами продуцента ферменту *B. allii* 100 (5) (Павлішко, 2004), дозволить розробити та впровадити нові та доступні для вітчизняного споживача аналітичні, системи для аналізу гліцеролу.

Метою нашої роботи є розробка ефективної схеми виділення, очистки та стабілізації ГО з штаму плісеневого гриба *B. allii* 100 (5) та вивчення деяких фізико-хімічних та ензиматичних характеристик ферменту.

Апробовано різні схеми виділення ГО з клітин *B. llii* 100(5) (Гайда, 2006). У результаті розроблено схему очистки фермента, яка включає фільтрацію міцелію гриба, механічне руйнування клітин у 50 мМ боратному буфері, рН 9,18 у присутності інгібіторів протеаз, центрифугування гомогенату, двостадійне фракціонування безклітинного екстракту сульфатом амонію та колонкову іонообмінну хроматографію. Дана схема дозволила отримати очищені препарати ферменту, стабільні при зберіганні при -10 °С упродовж місяця без втрати вихідної активності ГО.

Вивчення субстратної специфічності ГО *B. allii* стосовно споріднених до гліцеролу речовин – етиленгліколю, етанолу і метанолу показало, що гліцерол є найкращим субстратом для ферменту.

Встановлено стабілізуючу дію інгібітора протеаз м-АФБК, сахарози та іонів деяких металів на активність ГО. Визначено оптимальне значення рН ГО для гліцеролу, яке становить 7,0 - 7,5 та температурний оптимум дії ферменту.

Методом електрофорезу в ПААГ за денатуруючих умов встановлено молекулярні маси субодиниць ГО *B. allii* – 76,2 та 63,7 кДа ($p < 0,02$).

Робота виконана за фінансової підтримки НАН України в рамках комплексної науково-технічної програми "Сенсорні системи для медико-екологічних та промислово-технологічних потреб".

Гончар М., Костенко С.

МІЖВИДОВА ГІБРИДИЗАЦІЯ ЯК МЕТОД ПОКРАЩЕННЯ ПОРІД СОБАК

Національний університет біоресурсів і природокористування України

вул. Генерала Родимцева 19, м. Київ, 03041, Україна

E-mail: n_mary@rambler.ru

На сьогоднішній день нараховують більше тисячі порід собак, з яких близько чотириста зареєстровано в кінологічних організаціях. Службові та мисливські – це породи, які здавна і широко використовуються в усьому світі, отже основним завданням кінологів є покращення їх основних і незамінних якостей. Однією з основних проблем, які виникли при розведенні цих порід в чистому вигляді стало накопичення небажаних якостей і ослаблення імунного статусу тварин внаслідок інбридингу. Одним зі шляхів вирішення цієї проблеми є міжвидова гібридизація.

Мисливство на великих звірів, потребує використання великих за розміром, сильних і витривалих собак. В Литві для покращення мисливських якостей (нюху, витривалості) схрещували хортів з вовками. В Росії, для підвищення агресивності хортів, їх також схрещували з вовком. Останнім часом було виведено три породи собак на базі німецької вівчарки, що схрещувалася з вовком. Сарлосська вовча собака була виведена в Нідерландах Лендертом Сарлосом. У 1975 році голландський клуб визнав породу, яка в 1981 році була зареєстрована в FCI під назвою сарлосський вовчий собака (сарлос волфхонд). В наш час сарлоси широко застосовуються в Голландії як провідники сліпих, а також в службі порятунку для розшуку людей в завалах і потопаючих. Друга порода отримала назву "Волчак", вона несе близько 25% генотипу вовка, була виведена в Чехословаччині, третя – в Італії.

Від міжвидового схрещування собак і вовків, утворюється потомство, яке називається помісями або метисами. В результаті схрещування різко підвищується гетерозиготність отриманих тварин, що нерідко веде до гетерозису, тобто потужному розвитку помісей, які інколи мають перевагу навіть над кращою з вихідних порід. Помісі легко схрещуються між собою і дають потомство з сильнішою імунною системою. Наявні дані про гібриди вовка з собакою свідчать про те, що гібриди першого покоління можуть бути непридатні для використання в роботі (службовій, мисливській і т. п.), оскільки вони іноді полохливі, свавільні, невірні до уваги і не піддаються дресуванню. Часом непридатні і гібриди другого покоління, хоча серед них зрідка

зустрічаються окремі порівняно слухняні і керовані особини, які можуть використовуватися в подальшій селекційній роботі. І лише серед гібридів третього і четвертого поколінь, очевидно, з'являються помісі, що проявляють гарні робочі якості, у тому числі і мисливські.

На формування спадковості помісей впливають не лише ознаки, властиві породам, але і ознаки, властиві індивідуумам, лініям і родам. Особини, що дають хороше потомство при чистопорідному розведенні, зазвичай дають хороші результати і при схрещуванні. Але варто пам'ятати, що при схрещуванні метисів в собі, в другому та третьому поколінні зникає гетерозис, відбувається розщеплення ознак, спостерігається поява небажаних якостей і зміни кореляцій морфометричних показників, що склалися у вихідних породах. Відмічено, що гібридні тварини зберігають важливі в господарському відношенні морфологічні особливості диких видів, а від культурних порід набувають підвищеної продуктивності і плодючості. За рахунок пристосованості до специфічних умов даної місцевості життєстійкість тварин гібридного походження підвищується. З боку диких видів успадковуються в основному ті позитивні для вигляду якості, які грали важливу роль в процесі формування виду. Це може бути тип статури, особливості екстер'єру і конституції, характер обміну речовин, склад крові, розвиток органів чуття, особливості волосного покриву і деякі інші. Від домашніх тварин успадковуються в основному ті властивості, згідно яких відбувався штучний відбір. Виходячи з вищевикладеного, є доцільним рекомендувати українським кінологам використовувати міжвидову гібридизацію для поліпшення якості плеємної роботи в розведенні собак.

Горобець С., Біло О., Дем'яненко І., Михайленко Н.

ТЕХНОЛОГІЯ ОЧИСТКИ РІДИНИ ВІД БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ ЗА ДОПОМОГОЮ ВИСОКОГРАДІЄНТНОЇ ФЕРОМАГНІТНОЇ НАСАДКИ

Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут»

пров. Політехнічний, м. Київ, 03056, Україна

E-mail: pibtm@ukr.net

На сьогоднішній день можна з упевненістю сказати, що майбутнє медицини та біотехнології тісно пов'язане з використанням наноматеріалів та методів нанотехнології. Останнім часом особливу увагу приділяють науковим розробкам в біомедицині. А саме методикам очистки біологічних рідин від патогенних мікроорганізмів та вірусів. Зазначимо, що нанобіотехнологія є науковим напрямком, що інтегрує досягнення нано- і біотехнології (Березов Н. В., 2004). В цьому напрямку перспективною є магнітна сепарація магнітомічених біосорбентів, що вилучаються із робочого середовища з застосуванням ВГФН. Для цього використовуються магнітні сепаратори з ВГФН, що мають розгалужену структуру поверхні.

В даній роботі було досліджено спосіб виготовлення та ефективність ВГФН з розгалуженою структурою поверхні, отриманої методом магнітокерованої корозії. Розгалужена структура поверхні ВГФН утворюється під впливом магнітного поля протягом процесу корозії сталевієї пластини.

При дослідженні роботи і ефективності ВГМН важливим показником є магнітна сприйнятливість біооб'єкту, який вилучається із дослідного розчину.

Для проведення дослідження ефективності роботи ВГФН дріжджам *Sacharomyces cerevisiae* було приєднано магнітні мітки.

Визначення магнітної сприйнятливості комплексу дріжджові клітини-магнітні мітки проводили за кутом осадження клітин на елемент високоградієнтної феромагнітної насадки згідно методики. В експериментах досліджували залежність магнітної сприйнятливості біосорбенту від часу перемішування розчину дріжджів з магнітними мітками. Використовували метод механічного перемішування, який є простим у виконанні і відносно дешевим. Після проведення дослідів було визначено залежність кута осадження магнітокерованого біосорбента від часу перемішування розчину дріжджів з магнетитом. Згідно отриманих експериментальних даних, оптимальний час перемішування становить біля 6хв. Після 6 хвилин перемішування наномангнетита з дріжджовими клітинами кут осадження магнітокерованого біосорбенту

практично не збільшується і не приводить до підвищення магнітної сприйнятливості біосорбенту і, як наслідок, не підвищує ефективності ВГМН.

Дана ВГФН характеризується високим ступенем очистки, тобто є високоефективною. В промислових сепараторах використовують десятки іноді й сотні шарів ВГФН, що дозволяє очищати таким чином великі об'єми рідини. Описаний вище метод отримання ВГФН є економічно вигідним, так як процес травлення проводять при кімнатних температурах в магнітних полях до 3000Е. Такі МП можна отримати використовуючи постійні магніти, термін дії яких до 20 років.

Грень Т., Климишин Д., Федоренко В.

**ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ ГЕНА *snorA* У РЕГУЛЯЦІЇ БІОСИНТЕЗУ НОГАЛАМІЦИНУ
ШТАМОМ *STREPTOMYCES NOGALATER* IMET43360**

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського 4, м. Львів, 79005, Україна

E-mail: dedima@rambler.ru

S. nogalater IMET43360 є продуцентом полікетидного антибіотика ногаламіцину, що належить до групи антрациклінів і характеризується високою протипухлинною активністю. Кластер генів біосинтезу ногаламіцину (*sno*-кластер) розміром 37 т.п.н. клоновано та секвеновано. Встановлено, що до його складу входить 35 генів. Одним із генів, що міститься в *sno*-кластері є *snorA*. Продуктом цього гена є білок розміром 665 а.к.з. Порівняння послідовності білка *SnorA* із регуляторними послідовностями білків, виявлених у інших стрептоміцетів, вказує на високий ступінь його гомології до *DnrI*, задіяного у біосинтезі даунорубіцину у *S. peucetius*, *ActII-ORF IV* – у біосинтезі актинородину у *S. coelicolor*, *MtmR* – у біосинтезі мітраміцину у *S. argillaceus*. Усі вище перелічені білки є шлях-специфічними регуляторами, що належать до родини SARP (*Streptomyces antibiotic regulatory proteins*). Не зважаючи на високу гомологію вищеперелічених генів, функція гена *snorA* у біосинтезі ногаламіцину остаточно не встановлена. Метою нашої роботи було вивчити роль гена *snorA* у біосинтезі ногаламіцину.

Одним із шляхів вивчення ролі шлях-специфічних регуляторів у біосинтезі антибіотиків є їхня надекспресія в клітинах продуцентів дикого типу. З цієї метою ми перенесли сконструйовану нами раніше плазмиду *pKC1218EsnorA* в клітини *S. nogalater* IMET43360 шляхом кон'югації з *E. coli* ET12567 (pUB307). У результаті кон'югаційних схрещувань було отримано апраміцин-резистентні транскон'юганти з частотою $3,4 \times 10^{-7}$. Було проведено аналіз метаболітів отриманих транскон'югантних штамів та вивчено вплив введення додаткових копій гена *snorA* на рівень синтезу ногаламіцину рекомбінантним штамом. Показано, що наявність додаткових копій гена *snorA* в складі плазмиди *pKC1218EsnorA* приводить до зростання середнього значення індексу продуктивності та становить $2,7 \pm 0,05$, в той час як середнє значення індексу продуктивності дикого типу становить $2,3 \pm 0,05$. За допомогою тонкошарової хроматографії екстрактів антибіотиків штаму *S. nogalater* *pKC1218EsnorA* доведено зростання рівня продукції ногаламіцину та його попередників у порівнянні із диким типом.

Таким чином, введення додаткових копій гена *snorA* в клітини *S. nogalater* дикого типу зумовлює зростання рівня синтезу ногаламіцину, що дає змогу припустити, що його продуктом є шлях-специфічний активатор транскрипції генів біосинтезу ногаламіцину.

Грехова А., Бабенко О., Друзенко О.

ПЛР-АНАЛІЗ ДИГАПЛОЇДІВ ЯЧМЕНЮ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ АНДРОГЕНЕЗУ *IN VITRO*

Одеський національний університет імені І.І. Мечнікова

Шампанський пров., 2, м. Одеса, 65058, Україна

E-mail: n.acidroot@gmail.com

Мета роботи - дослідження молекулярно-генетичного поліморфізму дигаплоїдів ячменю, контрастних за здатністю до андрогенезу *in vitro* шляхом ПЛР-аналізу.

Методи дослідження - виділення тотальної ДНК, ПЛР-аналіз, електрофоретичні методи, комп'ютерна обробка даних.

Об'єкт дослідження – геномна ДНК ячменю.

Генетичний матеріал - дигаплоїдні генотипи ярого ячменю з високою і низькою здатністю до андрогенезу *in vitro*.

Культура пиляків *in vitro* як найбільш розповсюджений метод одержання гаплоїдів, дозволяє суттєво прискорити селекційний процес за рахунок одноступінчастого одержання гомозиготного матеріалу. Однак, впровадження цього методу у селекційну практику обмежено низкою певних факторів, зокрема, низьким виходом андрогенних структур. Однією з найважливіших умов, яка впливає на хід андрогенезу *in vitro* є генотип рослин-донорів пиляків.

Останнім часом найрозповсюдженішим методом встановлення молекулярно-генетичних характеристик ячменю є ПЛР-аналіз. З літературних джерел відомо про використання різних ПЛР-підходів для оцінки генетичних ресурсів ячменю. Мікросателітні локуси можуть бути асоційовані з цінними ознаками генотипів. Це дає можливість використати їх для розробки молекулярних маркерів до генів, які контролюють важливі якісні та кількісні ознаки, зокрема, ті, що пов'язані з процесом андрогенезу *in vitro*.

Так, Manninen O.M. (2000) встановив, що хромосома 2Н ячменю (*Hordeum vulgare* L.) містить QTLs, пов'язані з андрогенною здатністю. Автором виявлені молекулярні маркери, які асоційовані з даним QTL. Manninen O.M. (2000) використав дигаплоїдні лінії (ДГ) ячменю, які тестував з використанням мікросателітного маркеру HVM 36.

Отже, актуальним є дослідження молекулярно-генетичного поліморфізму генотипів ячменю для розробки молекулярних маркерів, здатності до андрогенезу *in vitro*.

Схема та результати дослідів:

Виділення зразків високомолекулярної ДНК з дигаплоїдів.

Отримані зразки ДНК з етильованих паростків дигаплоїдних ліній, які придатні для ПЛР-аналізу. Якість і концентрація виділеної ДНК встановлені з використанням ДНК – флуорометру та 1 % агарозного гелю.

Дослідження генетичної однорідності дигаплоїдного матеріалу.

За допомогою трьох пар праймерів до мікросателітних локусів ячменю (HVM62, HVM68, HVM74) дигаплоїдні лінії перевірено на типовість. У межах даних локусів досліджений генетичний матеріал є однорідним і може бути використаний для подальшого ПЛР-аналізу.

Аналіз алельного стану мікросателітного локусу HVM 36 у дигаплоїдів ячменю з високою і низькою здатністю до андрогенезу *in vitro*.

Для оцінки алельного стану мікросателітного локусу HVM 36 у генотипів ячменю з різною здатністю до андрогенезу проведено аналіз ДНК дигаплоїдних форм. Встановлено, що досліджені дигаплоїди відрізнялись між собою за розміром детектованого алелю за даним мікросателітним локусом.

Отже, проаналізовані дигаплоїдні генотипи, контрастні за андрогенною здатністю за мікросателітним локусом HVM 36, який асоційований з андрогенезом *in vitro* у ячменю. Виявлені різноманітні алелі за даним локусом у генотипів з високим та низьким рівнем андрогенної здатності.

Григор'єв Д.

ОЦІНКА ЛОКОМОТОРНОЇ АКТИВНОСТІ ЛІНІЙ ДИКОГО ТИПУ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

пл. Свободи, 4, м. Харків, 61077, Україна

E-mail: denladen86@mail.ru

Поведінка - це набір дій та реакцій живих організмів на зовнішні подразники. Хоча поведінкові реакції формуються переважно під впливом середовища, в їх основу входить спадкова складова. Локомоторна активність є важливою поведінковою ознакою. Генетичні дослідження

локомоторної активності дозволяють з'ясувати в якій мірі мінливість ознаки пов'язана з мінливістю генотипів даної групи тварин, а в якій – із зовнішніми, відносно до генотипу, факторами, що впливають на ЦНС, отже й на локомоцію. Визначення характеру успадкування даної ознаки у комах є практично значущим через те, що рівень локомоторної активності скорельований з рівнем стійкості комах до інсектицидів. Для вивчення локомоторної активності нами був вибраний класичний модельний об'єкт генетики – *Drosophila melanogaster*.

Оцінювали локомоторну активність у особин з популяцій, що походять з різних регіонів України, а саме: з Лубнів, Варви, Умані, Пирятин, Ялти (лінія Магарац), а також особин лінії Озеро з Чорнобильської зони відчуження, відібраних співробітниками кафедри генетики Київського національного університету ім. Т. Г. Шевченка. Виміри проводили за стандартною методикою відкритого поля (Connolly K., 1967). Досліджували спонтанну локомоторну активність окремо для самців і самок кожної лінії. Муху розміщували у чашці Петрі, дно якої розмічено квадратами зі сторонами по 5 мм. Спостереження проводили протягом двох хвилин, визначаючи сумарну довжину пробігу кожної мухи. Потім розраховували середню довжину пробігу для самців та самок кожної лінії.

Встановлено вірогідні відмінності між рівнем локомоторної активності мух різних статей в середині ліній. Так, в лініях Пирятин, Магарац і Озеро показники самців перевищували показники самок, а в лініях Варва, Умань і Лубни, навпаки були зменшені. Ймовірно це пов'язано з особливостями виживання популяцій. Були виявлені контрастні за показником лінії. Найвищу локомоторну активність мали мухи лінії Озеро ($184,29 \pm 10,09$), а найнижчу - в лінії Пирятин ($97,65 \pm 10,08$). Отже, несприятливе середовище впливає на рівень локомоторної активності. Проводиться генетичний аналіз впливу генотипу на показник локомоторної активності ліній *D. melanogaster*.

Гром К., Костенко С.

АНОМАЛІЇ ОСЬОВОГО СКЕЛЕТУ СОБАК ТА КІШОК

Національний університет біоресурсів і природокористування України

вул. Генерала Родимцева, м. Київ, 03041, Україна

E-mail: grom_kat@voliacable.com

До аномалій осьового скелету відносять аномалії черепа та хребта. Подібних генів у котів та собак описано менше, ніж у інших тварин, що говорить про їх недостатнє вивчення.

Найбільш поширені генетично обумовлені аномалії черепа - це "вовча паща", заяча губа, прогенія, прогнатія, остеопатія. У кішок описаний ряд аномалій стосовно будови вушної раковини. У деяких випадках ці ознаки поєднуються з багатьма іншими відхиленнями, які у гомозиготному стані дають летальний або сублетальний ефект. Це такі мутації, як подвійне вухо, закручене вухо (скотішфолд) та ін.

Відповідно, серед аномалій хребта варто виділити такі, як синдром кінського хвоста, деформуючий спондиліоз, зміщення міжхребцевих дисків, остеохондроз, аномалія клиновидного хребця. У грудному відділі осьового скелету зустрічається синдром плоских грудей (Робінсон, 1993).

Необхідно відмітити, що у деяких випадках фенотипово схожі аномалії можуть мати різну генетичну природу, або бути наслідком дії тератогенних факторів. Це, так звані, фенокопії. Так, "вовча паща" може виникати внаслідок дії факторів навколишнього середовища, або бути генетично обумовленою. Деякі хвороби мають високий ступінь успадкування, але їх прояв у значній мірі залежить від раціону годування. Наприклад, остеохондроз, ступінь успадкування якого - 45-77% (Willis, 1992). Він особливо поширений серед значних за розміром порід таких, як сенбернар, бернський зененхунд, ротвейлер, лабрадор, ньюфаундлер. Так само, порівняно схожі аномалії можуть зустрічатися з неоднаковою частотою. Так, ефект прогенії (вкорочення нижньої щелепи) зустрічається частіше, ніж ефект прогнатії (вкорочення верхньої щелепи). В обох випадках аномалії успадковуються як прості рецесивні ознаки (Московкина Н.Н., Сотская М.Н., 2004).

Більша частина генетичних аномалій існує у вигляді рецесивних летальних або сублетальних генів, що знаходяться у гетерозиготному стані і створюють генетичний вантаж популяцій. Хоча бувають і винятки, так "вовча паща" у бульдогів успадковується, як проста рецесивна ознака, у зененхундів - як домінантна, яка іноді поєднується із заячою губою. Найчастіше тварини з такими відхиленнями швидко гинуть, однак сьогодні власникам тварин пропонуються пластичні операції, які можуть забезпечити тварині нормальне існування протягом багатьох років.

На сьогодні механізм успадковування багатьох аномалій ще не вивчений. Наприклад, деформуючого спондилозу. Проте, відомо, що до цієї хвороби схильні жердель тер'єри, боксери, кокери та німецькі вівчарки. Хоча, користуючись даними заводських клубів, можна визначити схильність окремих порід до вище згаданих генетичних хвороб. Так, остеопатія найчастіше зустрічається у тер'єрів, лабрадорів, догів та доберманів.

Деякі хвороби є характерними лише для певних порід. Наприклад, краніомандібулярна остеопатія - це мало поширена аномалія у групі тер'єрів (скотч, керн і т.д.) та носить аутосомно-рецесивний характер. Аномалії хвоста найбільш поширені серед собак тих порід, у яких прийнято купірувати хвости. Для собак деяких порід (англійський і французький бульдоги) викривлені хвости являються нормою.

Для фахівців ветеринарної медицини важливим аспектом у визначенні, прогнозуванні та лікуванні окремих захворювань є знання анатомічних властивостей тварин окремих порід. Таким чином можна визначити і степінь їх схильності до певного захворювання. Так, у собак, які мають довгий хребет і виражену хондро-дистрофію спостерігається підвищена схильність до зміщення міжхребцевих дисків (особливо у ділянці попереку), що призводить до так званого "таксового паралічу". Подібна аномалія описана у пекінесів, кокерів, французьких бульдогів.

**Грубський Я., Лопатнюк М., Аравіцька О., Хмель Ю.,
Осташ Б., Громико О., Федоренко В.**

**ВИВЧЕННЯ ЗМІН АНТИБІОТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ СПОНТАННИХ ТА ІНДУКОВАНИХ
УЛЬТРАФІОЛЕТОМ СТРЕПТОМІЦИН- ТА РИФАМПІЦИН-РЕЗИСТЕНТНИХ МУТАНТІВ
STREPTOMYCES SIOYAENSIS LV81**

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського 4, м. Львів, 79005, Україна
E-mail: slavushah@gmail.com*

Штам *Streptomyces sioyaensis* Lv81 (NRRL B-5408) є продуцентом тіопептидного антибіотика сіоміцину. Цей антибіотик володіє антибактеріальними та протипухлинними властивостями. Відомо, що гени, які забезпечують стійкість як до власного, так і до інших антибіотиків, можуть мати вплив на рівень антибіотичної активності штама. Тому, отримання і вивчення мутантів штама *S. sioyaensis*, в яких є зміни антибіотичної активності є важливим кроком у вивченні механізмів біосинтезу сіоміцину та селекції його продуцентів.

Спонтанні стрептоміцин-резистентні (Str^r) мутанти отримували на соєвому середовищі (CC-14), яке містило від 1 до 2 мкг/мл стрептоміцину. Частота виникнення Str^r-мутантів коливалася від $1,6 \times 10^{-5}$ до $1,1 \times 10^{-7}$. При концентрації рифампіцину в CC-14 від 0,1 до 0,5 мкг/мл виникали спонтанні Rif^r-мутанти із частотою від $1,29 \times 10^{-6}$ до $2,67 \times 10^{-8}$. Для виділення індукованих Str^r- та Rif^r-мутантів *S. sioyaensis* як мутаген використали ультрафіолетове випромінювання (УФ, $\lambda = 260$ нм) протягом 120 сек, відсоток виживання при цьому становив 0,7. Після УФ-обробки спор *S. sioyaensis* частота виникнення клонів, стійких стрептоміцину та рифампіцину, зростала на порядок.

Дослідили антибіотичну активність спонтанних та індукованих Str^r- та Rif^r-мутантів *S. sioyaensis*. Отримані дані порівнювали із продукцією антибіотика вихідним штамом та його клонами, обробленими УФ. Проаналізовано 473 спонтанних та 832 УФ-індукованих Str^r-мутантів. Середній індекс продуктивності (ІП) спонтанних Str^r-мутантів, як і УФ-індукованих Str^r-мутантів, був нижчим, ніж у спонтанних клонів *S. sioyaensis* та його ж

клонів, отриманих після обробки УФ. Він становив $3,96 \pm 0,05$ та $4,35 \pm 0,06$ відповідно. Частка "плюс"-варіантів та коефіцієнт варіації спонтанних та УФ-індукованих Stt-мутантів теж знижувалися порівнянно із спонтанними клонами та клонами отриманими після дії мутагену без селекції на стрептоміцин стійкість. Ці дані показують, що для отримання високопродуктивних штамів відбір УФ-індукованих Stt-мутантів *S. sioyaensis* немає переваг перед його мутагенізацією без селекції таких мутантів.

Порівнявши між собою показники антибіотичної активності Rif-мутантів, спонтанних клонів вихідного штаму та його ж клонів, отриманих після мутагенізації УФ виявлено, що П і частка "плюс"-варіантів були найвищими серед клонів вихідного штаму обробленого УФ. Він становив $6,1 \pm 0,08$ та $15,3 \pm 0,03$ % відповідно. Частка "мінус"-варіантів була найвищою серед індукованих Rif-мутантів і становила $3,5 \pm 0,03\%$. Коефіцієнт варіації рівня синтезу сіоміцину УФ індукованих Rif-мутантів був найвищим серед всієї досліджуваної вибірки клонів і дорівнював 49,7%.

Отримані дані свідчать, що для виділення високопродуктивних штамів відбір спонтанних та УФ-індукованих Stt- та Rif-мутантів *S. sioyaensis* немає переваг перед його мутагенізацією без селекції таких мутантів.

Гулянич М.

ГЕНЕТИКА ПОВЕДІНКИ КОТІВ

Національний університет біоресурсів і природокористування України

вул. Генерала Родимцева, 19, м. Київ, 03041, Україна

E-mail: myroslava.hulyanych@gmx.de

Felis catus (domestica) з її численними породами можуть слугувати прекрасними об'єктами для досліджень генетики поведінки (Ерман Л., Парсонс П., 1984). На сьогодні відомо, що чорні коти – ласкаві, мають гарний характер і легко контактують з будь-яким господарем, руді коти – найрозумніші, вони легко навчаються, але можуть бути неслухняними. Білі коти образливі, частіше хворіють на інфекційні захворювання, можуть мати вади слуху (Московкіна Н., 2000).

Для дослідження впливу довжини шерсті у породи на різні аспекти поведінки тварини ми склали анкету і провели опитування власників котів. На основі проведеного анкетування серед власників породистих кішок, було виявлено певні закономірності, подібності та відмінності в поведінці кішок різних порід.

Так, персидські кішки характеризувалися спокійною поведінкою, м'якістю та ніжністю характеру. Деякі власники відмітили темпераментність персів та прив'язаність до своєї території, господарів та дому. Персидські кішки виявляють приязність та ласку. Довга, розкішна шерсть цих котів потребує постійного догляду. Також ці коти є досить охайними.

Породи з шерстю середньої довжини характеризуються грайливим характером, вони непосидючі, незалежні, хороші мисливці, приязні, загалом, невибагливі. Ці тварини люблять спілкування, товариство, увагу, ласку.

Кішки із короткою шерстю - ласкаві, рухливі, невибагливі, приязні. Також кішки цих порід відмічаються дружелюбністю та прив'язаністю до господаря та оточуючих її людей. Мають досить хороший апетит, деякі навіть схильні до переїдання. Всі кішки цих порід люблять товариство і дуже часто сумують без людей.

Східні породи характеризуються гучним голосом, який не соромляться подати, коли їм потрібна увага. Вони рухливі, приязні, ласкаві, невибагливі, люблять товариство.

Кішки бірманських порід виділяються рухливістю та прив'язаністю до господаря, вони товариські та розумні. Кішки сіамських порід рухливі, розумні, грайливі, володіють гучним голосом, люблять товариство.

Знання особливостей характеру тварин різних порід дозволить рекомендувати майбутнім господарям тих котів, які найкраще задовільнятимуть вимоги, пов'язані з особливостями

життя сімей (наявністю дітей певного віку, можливістю часто бувати дома і доглядати за вовною тварини, подовгу спілкуватися з улюбленцем).

Дениско Т.

ОЦІНКА ТА ДОБІР ТОЛЕРАНТНИХ ДО АЛЬТЕРНАРІОЗУ ФОРМ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ В СИСТЕМІ *IN VITRO*

Південний біотехнологічний центр в рослинництві УААН

Овідіопольська дорога, 3, м. Одеса, 65036, Україна

E-mail: tanyadenisko@rambler.ru

Пшениця характеризується надзвичайно важливим продовольчим значенням. Безумовно, від якості насіння залежить майбутній врожай, а від якості зерна, відповідно, продукти його переробки. За даними Селекційно-генетичного інституту, відбувається загальне збільшення кількості патогенних мікроміцетів, в тому числі збільшилась частота виявлення видів роду *Alternaria*, в порівнянні з попередніми роками. Дослідження показали, що види роду *Alternaria* є одними з основних патогенів озимої пшениці в Україні на сьогоднішній день. (Нікіфорова Е.А., 2007 г; Бабаянц О.В, 2007).

Метою нашої роботи був первинний скринінг ізолятів грибів роду *Alternaria* із колекції лабораторії фітопатології Селекційно-генетичного інституту на токсигенність для подальшого отримання фільтратів культуральної рідини, розробки методологічних підходів до побудови *in vitro* біотехнології для оцінки форм м'якої пшениці, стійкої до альтернаріозу, постановки клітинної селекції.

В роботі було використано одинадцять ізолятів грибів роду *Alternaria*, які відносяться до видів *A. tenuissima*, *A. trititica*, *A. infectoria*.

Біотестування проводили на двох біологічних системах - зрілому насінні та зародках, виділених із нього. У якості тест-об'єктів використовували сорти озимої м'якої пшениці селекції СГІ, що різняться за фітопатологічною оцінкою стійкості до грибного патогену: як, еталон стійкості до альтернаріозу – сорт "Скарбниця", чутливий до патогену - сорт "Сирена".

Насіння стерилізували 70% спиртом протягом 10 хв., 2,5% розчином гіпохлориту натрію - 20 хв. (комерційний розчин "Білизна"), після чого промивали розчином 0,01н НСІ протягом 10 хв. та дистильованою водою (4 рази). Для виділення зрілих зародків та підготовки цільного насіння для досліду, чашки Петрі зі стерильним насінням попередньо поміщали на добу в холодильник за температури 2°C. У ході досліду, один гачок 7-денних культур ізолятів грибів роду *Alternaria*, які вирощували при 24°C на середовищі Чапека, висівали в чашки Петрі на агаризовану (8 г/л агар-агар) поверхню без додаткових елементів. Одночасно з ізолятами висівали насіння та ізольовані зародки (подвійна культура). Біосистеми (насіння + культура гриба та ізольовані зародки + культура гриба) культивували при температурі 24°C протягом 10 діб – від проростання до формування проростків. Оскільки рівень схожості насіння при проростанні є важливим показником його життєздатності, його можна використовувати як показник відгуку зародку на дію факторів в культурі *in vitro* та як показник рівня токсигенності ізоляту патогена. Критеріями для оцінки реакції зародків на вплив патогену були рівень пророслих (на 3 добу культивування) зародків, рівень паростків, що вирости із них (на 10 добу), довжини частин паростку(корінець, колеоптіль) у досліджуваних зразків пшениці відносно цих показників в контролі (у %).

Результати досліджень. Більшість досліджуваних ізолятів показали високу токсигенність вже на 3 добу. Рівень паростків, що вирости на 10 добу майже не змінився, в порівнянні з рівнем пророслих на 3 добу зародків. Процент проростання зародків стійкого до альтернаріозу сорту "Скарбниця" - в середньому 52%, що є на 20% вище проценту проростання чутливого сорту "Сирена" (в середньому 32%). 6 із 11 досліджуваних ізолятів виявились високотоксигенними (процент проростання зародків чутливого сорту "Сирена" - 9-26%, стійкого сор-

ту - 27-43%). Більшість досліджуваних ізолятів пригнічували ріст частин паростку (корінець, колеоптіль) у дослідах з використанням ембріокультури.

Результати даних та подальших досліджень можна використовувати для побудови тест-системи *in vitro* для первинного скринінгу ізолятів грибів роду *Alternaria* на токсигенність та добору толерантних до альтернаріозу форм озимої м'якої пшениці. Ембріокультура є більш чутливою та показовою біологічною системою таких досліджень.

Джус П., Костенко С.

МУТАЦІЇ ГОМОЛОГІЧНИХ ГЕНІВ, ЩО ВИКЛИКАЮТЬ СПАДКОВІ ПОРУШЕННЯ У ПРЕДСТАВНИКІВ РІЗНИХ ВИДІВ КЛАСУ ССАВЦІВ

Національний університет біоресурсів і природокористування України

вул. Генерала Родимцева 19, м. Київ, 03041, Україна

E-mail: pawlina_juice@mail.ru

Генетично детерміновані відхилення в будові і функціях органів та систем організму виникають як результат порушень нормальної реалізації спадкової інформації. Основними причинами такої нестабільності процесів успадкування та появи генетичних помилок, що призводять до спадкових аномалій розвитку, найчастіше виступають генні мутації. Подібність їх фенотипового прояву у представників різних видів класу ссавців можуть свідчити про мутації гомологічних генів, які зберігаються в генофондах популяції особин в ході еволюції. Обґрунтованим підтвердженням чого слугує закон гомологічних рядів в спадковій мінливості М.І.Вавилова (Вавилов Н. И., 1957).

Порівняльний аналіз генів – гомологів, причини та наслідки мутагенезу яких добре вивчено у певних представників одного класу, дає можливість вирішувати ряд проблем щодо передбачення появи, полегшення діагностики та розробки методів запобігання мутаційних порушень таких генів у інших видів, і людини, зокрема.

Так, трансверсія в 559 позиції гена SLC35A3 із заміщенням пуринової азотистої основи гуанін на піримідинову – тимін призводить до деформації білкових каналів апарату Гольджі в скелетній та м'язевій тканинах внаслідок заміни амінокислоти валін на фенілаланін у 180 позиції транспортного білка. Чітко виражені симптоматичні прояви даної мутації спостерігаються у великої рогатої худоби, як комплексне порушення опорно-рухового апарату, так званий синдром CVM, що характеризується аутосомно-рецесивним типом успадкування із 100% елімінацією гомозигот за цим геном (Agerholm et al., 2001). Використовуючи дані комп'ютерної геномної бази MGD homology query, було встановлено, що ген SLC35A3 у *Bos taurus* локалізується в 3 хромосомі. Аналогічні фрагменти нуклеотидної послідовності відмічено у 4 хромосомі *Sus scrofa* із ступенем гомології 94%, в 6 хромосомі *Canis familiaris* (ступінь гомології 86%) і короткому плечі першої хромосоми генотипу *Homo sapiens* (1p21) із ступенем гомології 95%. Найвищим ступінь гомології за нуклеотидною послідовністю даного гену відмічений у *S. scrofa* та *H. sapiens* – 98%.

Заміна гуаніну на аденін в 1691 позиції гена V фактора згортання крові (F5) і відповідно, приєднання глютаміну замість аргініну в 506 позиції амінокислотної послідовності білка, що відповідає за підтримання гомеостазу в плацентарних ссавців, викликає порушення репродуктивних функцій самок у вигляді абортів на ранніх стадіях ембріонального розвитку, відслоювання плаценти, сильний розвиток імунних реакцій. Успадкування даної мутації відбувається аутосомно-домінантно. Ген F5 coagulation blood знаходиться в 16 хромосомі *B. taurus*, 4 хромосомі *S. scrofa*, 6 хромосомі *C. familiaris* і довгому плечі першої хромосоми *H. sapiens* (1q23) (за Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)).

Мутація гену протромбіну G20210A, що призводить до підвищення його рівня в крові у 1,5 – 2 рази, відбувається по типу трансверсії гуаніну на аденін у 20210 позиції нуклеотидної послідовності даного гену у людини. Мутація успадковується аутосомно-домінантно, тобто гетерозиготні носії мутантного гену також хворіють на тромбоз.

Різні мутаційні зміни генів, що призводять до розвитку спадкових захворювань зустрічаються з різною частотою у популяціях особин різних видів. Ідентифікація порушень саме гомологічних генів створює сприятливі передумови для чіткої класифікації мутацій, які характеризуються аналогією фенотипового прояву, порушуючи при цьому різні структури геному організму. Дослідження принципу гомології генів та мутацій, що в них виникають, дає можливість використовувати певні організми як біологічні модельні об'єкти для вивчення інших.

Дзьома Ю., Стародуб М.

ДОСЛІДЖЕННЯ РІВНЯ АНТИ-ІНСУЛІНОВИХ АНТИТІЛ У ДІАБЕТИКІВ ЗА ДОПОМОГОЮ ІМУННОГО БІОСЕНСОРА

Національний університет біоресурсів і природокористування України

вул. Героїв Оборони 15, м. Київ, 03041, Україна

E-mail: DZOMA@ukr.net.

Цукровий діабет - одне з найбільш поширених ендокринних захворювань, якт характеризується абсолютним чи відносним дефіцитом інсуліну, причому наявність анти-інсулінових антитіл однозначно свідчить про розвиток аутоімунних порушень в організмі. Проблема їх ідентифікації та кількісного визначення має важливе значення для встановлення механізму розвитку патологічних форм підшлункової залози, а також для індивідуалізації та підвищення ефективності інсулінотерапії. Тому, розробка нового імуно-хімічного методу тестування важливої групи імуномодуляторних молекул - анти-інсулінових антитіл, який базується на принципах сучасної біосенсорики, а саме: феномену поверхневого плазмонного резонансу (ППР) є дуже актуальним і важливим. З іншого боку, аналіз концентрації антитіл цього типу дозволить оцінити функціональний стан важливого органу - підшлункової залози, яка регулює вуглеводний обмін в організмі, та обґрунтувати використання цього кількісного показника в якості диференційно-діагностичної та патолого-генетичної ознаки при діабеті.

Мета роботи - дослідження ефективності роботи імунного біосенсора на основі поверхневого плазмонного резонансу (ППР) з простим, експресним і, разом з тим, достатньо чутливим алгоритмом оцінки рівня специфічних антитіл в сироватці крові хворих на цукровий діабет. Ефект ППР дає можливість реєструвати міжмолекулярні взаємодії інсуліну зі специфічними антитілами.

В процесі виконання роботи встановлено, що попередньо модифікована поверхня трансдуктера поліаліламіном, забезпечує ефективну іммобілізацію інсуліну і в подальшому оптимізує функціональні параметри ППР імунного біосенсора. Використання цього поліелектроліту для модифікації поверхні перетворювача імунного біосенсора на базі ППР є найбільш доцільним, дешевим і простим, порівняно з іншими низькомолекулярними агентами, а саме: додекантіолом, декстраном та іншими. Встановлено, що діапазон оптимальних концентрацій інсуліну для його іммобілізації на поверхні трансдуктера лежить в межах 250-500 мкг/мл. Для того, щоб уникнути появи неспецифічних реакцій в системі інсулін-інсулінові антитіла, розведення досліджуваної сироватки повинно бути не менше 1:100. В роботі використано препарати інсуліну мінського виробництва та фірм "Sigma", "Calbiochem". Всі вони виявилися придатними для використання в якості антигенів для реєстрації рівня специфічних антитіл в крові хворих на діабет.

В якості контрольної тест системи використовували традиційний ELISA-метод. Результати імунобіосенсорного аналізу корелюють з даними, отриманими цим методом. Час виконання аналізу імунобіосенсорним методом за умови попередньої підготовки поверхні перетворюювача складає біля 5 хв. Виконання аналізу за допомогою ELISA-методу займає не менше 6-8 год. Це вказує те, що імунобіосенсорний аналіз може бути здійснений біля ліжка хворого. Слід наголосити також і на те, що попередньо підготовлена поверхня трансдуктора зберігає свою активність більше 3-х місяців. Перевірка роботи імунного біосенсора на реальних зразках свідчить про те, що при зсуві резонансного кута ППР імунного біосенсора в межах 2-3-х кутових хвилин можна говорити про відсутність імунної відповіді організму на екзогенний інсулін. Разом з тим, починаючи з цього рівня, а особливо з його наростанням в

динаміці, тестування, збільшується інтенсивність розвитку аутоімунного процесу у діабетиків. Причому максимальна інтенсивність його відмічається у пацієнтів з довготривалим використанням такого інсуліну і показники імунного біосенсору при цьому можуть досягати декількох десятків кутових хвилин.

Драгулян М., Костенко С.

МІКРОЕВОЛЮЦІЙНІ ПРОЦЕСИ ПЕРЕБУДОВ КАРІОТИПУ *SUS SCROFA* IN VIVO І В КУЛЬТУРАХ КЛІТИН IN VITRO

*Національний університет біоресурсів та природокористування України
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна*

E-mail: parus_major@ukr.net

Мікроеволюція - основа породотворюючого процесу у всіх видів сільськогосподарських тварин, в тому числі, у свині свійської (*Sus scrofa*). Цей вид представляє інтерес також, як модельний для вивчення процесів перебудови каріотипу, оскільки хромосомний набір представлений як акроцентричними, так і мета-, суб метацентричними хромосомами.

Данні останніх 50 років наукових досліджень у галузі цитогенетики свині свідчать про те, що центромерні райони хроматид цього виду можуть вважатися гарячими точками мікроеволюційних процесів перебудови каріотипу. За даними Жданова Н.С. сучасний геном свині свійської утворився за рахунок 42-х хромосомних перебудов. (Жданова Н.С., 2007).

Носійство хромосомних перебудов, зокрема, транслокацій, призводить до зниження репродуктивної функції тварин, що особливо, важливо при виборі плідників. Тому, цитогенетичний аналіз - важливий елемент генетичного моніторингу племінних тварин. За даними А.Дюкоса у Франції за 2002-2006 рік серед 7700 молодих хряків 0,47% виявилися носіями реципрокних транслокацій та 12 особин мозаїками (11 - XX/XY, 1 - XY/XXY). За період 2000/2001 років цією ж лабораторією у Франції було знайдено 0,34% тварин з реципрокними транслокаціями. Аналіз каріотипів хряків із зменшеною репродуктивною функцією дозволив виявити носійство наступних транслокацій: rcp(4;6)(q21;p14), rcp(2;6)(p17;q27) і rcp(5;17)(p12;q13), що були знайдені у тварини з розміром гнізда 7,4 -8,3 поросят.

На сьогодні є відомості про 53 різні хромосомні перебудови. Аналіз хромосом, які залучалися в реципрокні транслокації свідчить про те, що акроцентричні і субметацентричні хромосоми частіше зазнавали перебудов. Метацентричні хромосоми залучаються до транслокацій в 2 рази рідше, ніж акроцентричні і субметацентричні.

Серед окремих хромосом найчастіше описані порушення 13 і 14 rcp(13q-;14q+), що залучаються до транслокацій (Barbara Danielak-Czech, Ewa Sota, 1997, King W.A., Gustavsson I, Popescu C.P., 1981, Hageltorn M, Gustavsson I. And Zech L., 1986).

Хромосоми 1 і 14 також часто зазнають перебудов: rcp (1p-;6q+) (Zech L., 1976), rcp (1p-;14q+) (Danielak-Czech B, S.ota E, Witonski M, 1994), rcp (1p-;16q+) (Folster M., Willeke H. and Richter L., 1981), rcp (1q-;15q+), rcp (lp-;llq+) (Gustavsson I, Laksson K., Switonski M. And Ploen L., 1988), rcp (1q-;17q+) (Singh B, Fisher KRS, Yadav BR, Basrur PK., 1994), rcp (1q+;14q-), rcp (1q-;7q+), rcp (1p-;8q+), , rcp (1q+;7q-) (Пєрухов В.Л., 1996), rcp (1p+;14q-) (Danielak-Czech B., Siota E., 2007), rcp (4q-;14p+), rcp (4p+;14q-)(Пєрухов В.Л., 1996), t (4q+;14q-) (Popescu C.P. and Legault C., 1979), rcp (5p-;14p+), rcp (6p+;14q-) (Пєрухов В.Л., 1996), rcp (12q;14q) (Ford C.E., Pollock D.L. and Gustavsson I., 1980), rcp(13q-;14q+) (King WA, Gustavsson I, Popescu CP, 1981), rcp(9q-;14q+) (Astachova N. M., Vysotskaya L. V., Graphodatski A. S., 1988, Rejduch B., S.ota E., Sysa P., KwaczyOska A., Kozubaska-SobociOska A., Danielak- Czech B., 2003).

Крім того, були виявлені і описані випадки нерципрокних перебудов хромосом – t (1q;5q), t(7q;13q), t(8p;14q), t(9q;14q), t(Xp+; 14q-) (Long SE., 1991, A.Pinton, T. Faraut,M. Yerle, J. Gruand, F. Pellestor and Ducos, 2007).

Євсюкова К.**ПРОЯВИ АГРЕСИВНОСТІ І ЕМПАТІЇ У ЛЮДИНИ: ПОПУЛЯЦІЙНИЙ АНАЛІЗ***Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, пл. Свободи, 4, м. Харків, 61077, Україна**E-mail: klukvo4ka@ukr.net*

Відповідно Р.Берону і Д.Річардсону (2001), агресія - це будь-яка форма поведінки, націлена на заподіяння шкоди іншій живій істоті, не бажаною подібного ставлення. У людини виділяють п'ять видів агресивності – вербальна, непряма, фізична, реактивна та проактивна (Атраментова, Филиппова, 2008). Генетичні відмінності вносять значний вклад в формування міжіндивідуальних відмінностей в агресивній поведінці. Емпатія - це розуміння емоційного стану іншої людини, проникнення в його суб'єктивний світ. Розрізняють емоційну та когнітивну емпатію. В прояві агресивності і емпатії є генетична компонента (Атраментова, Філіппова, 2008). Як і будь-які ознаки, котрі мають генетичну компоненту, вираження агресивності і емпатії може залежати від популяційної структури. В останнє десятиліття спостерігається корінна зміна в структурі людської популяції (Алтухов, 2001, Курбатова, 2005). Тому представляється важливим одержати інформацію про зв'язок між виразністю агресивності й емпатії залежно від популяційної структури.

У дослідженнях прийняли участь 2020 жителів Харкова. Збір інформації проведено з урахуванням етичних вимог при роботі з людиною. Для оцінки фізичної, непрямої та вербальної агресивності використано тест Басса-Даркі (Карелин, 2002). Проактивну і реактивну агресивність вивчали за допомогою модифікованої версії опитувача FPI (Балин, Гайда и др., 2000). Оцінка рівня агресивності представлена в балах. Для оцінки емпатії використовувався опитувач Меграбяна-Епштейна (Балин, Гайда й ін., 2000). Для оцінки проактивної та реактивної агресивності використана інформація про 188 пар "батько-нащадок", 62 sibсові пари і 22 шлюбні пари; фізичної, непрямої і вербальної агресивності – опр 141, 48 і 12 пари, відповідно. Для оцінки спадковості емпатії була використана інформація про 183 пари "батько-нащадок", 60 sibсових пар і 40 шлюбних партнерів. За ступенем екзогамії обстежувані були розподілені на дві групи. Групу підвищеної екзогамії склали індивіди, чий батьки являються представниками різнонаціональних шлюбів. Індивіди, батьки яких є представниками однонаціональних шлюбів, віднесені до групи зі зниженою екзогамією. За віком і національністю групи чоловіків і жінок не відрізнялися. Перевірка розподілу дат у групах на відповідність нормальному закону розподілу проводилась методом Колмогорова-Смірнова. Порівняння середніх арифметичних проведено з використанням критерію *t*. База даних і розрахунки зроблені в програмі Microsoft Excel.

Серед досліджуваних до українців належить 77,5% чоловіків та 80,8% жінок, до росіян – 16,9% та 16,1%, відповідно. % склали білоруси, табасаранці, греки, євреї та інші. Для осіб чоловічої статі, які походять від шлюбів, в яких обидва батьки є представниками різних етнічних груп, спостерігається тенденція до підвищення агресивності. Для осіб жіночої статі, які походять від шлюбів з підвищеним рівнем екзогамії, спостерігається зниження агресивності. Виявлені тенденції по зниженню рівня емпатії у нащадків, народжених від шлюбу з підвищеним рівнем екзогамії.

Дослідження є частиною науково-дослідницького проекту з психогенетики, підтриманого грантом Президента України "Оцінка інтелектуального потенціалу молоді України засобами генетики". Висловлюю вдячність проф. Л. О. Атраментовій за запропоновану тему дослідження і обговорення результатів дослідження.

Єрохін В., Карпенко О.**ОСОБЛИВОСТІ БІОСИНТЕЗУ МІКРОБНИХ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН
В УМОВАХ БІОРЕАКТОРА***Відділення фізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії**ім. Л. М. Литвиненка НАН України, вул. Наукова, 3а, м. Львів, 79060, Україна**E-mail: biotehlviv@ukr.net*

Як відомо, практичною кінцевою метою будь-яких біотехнологічних досліджень є розробка ефективної технології промислового виробництва цільового продукту шляхом мікробного синте-

зу. Але через ряд особливостей відтворення лабораторних умов біосинтезу в масштабах промислового виробництва не завжди є можливим. Саме тому, велика кількість біотехнологічних розробок залишається на стадії лабораторних досліджень. Таким чином, підбір оптимальних умов отримання цільових продуктів при масштабуванні технології від лабораторної стадії до промислового виробництва є надзвичайно важливим завданням біотехнології.

У Відділенні ФХГК ІнФОВ НАН України тривалий час проводяться дослідження синтезу мікробних поверхнево-активних речовин (біоПАР), які за своїми функціональними та екологічними властивостями мають значні переваги у порівнянні із синтетичними аналогами: вони є високоефективними, але разом з тим нетоксичними, неалергенними та біодеградабельними, тобто екологічно безпечними. Попередніми дослідженнями відібрано перспективний штам - продуцент поверхнево-активних речовин гліколіпідної природи; підібрано оптимальні умови біосинтезу (склад поживного середовища, кількість посівного матеріалу, температуру, pH, аерацію) та розроблено методику виділення цільових продуктів.

Наступним завданням було масштабування технології виробництва біоПАР до умов біореактора. Культивування штаму проводили в стандартному ферментері з барботажною системою аерації. За даних умов ріст культури характеризувався тривалішою лаг-фазою та меншою питомою швидкістю росту в експоненційній фазі, що збільшувало тривалість культивування в 1,6 - 1,8 разів. Максимальний вихід цільового продукту досягався на 6 - 7 добу ферментації, у той час, як в аналогічних умовах при культивуванні на колбах максимальний вихід отримували вже на 3 - 4 добу. Таким чином, підібрані умови культивування не є оптимальними для вирощування даного штаму в біореакторі і потребують додаткової оптимізації.

Крім того, процес культивування супроводжувався інтенсивним піноутворенням, що супроводжувалося втратами цільового продукту з піною. В даному випадку механічні засоби піногасіння виявилися малоефективними, а додавання піногасника до культуральної рідини при синтезі ПАР є небажаним. Експеримент дозволив визначити, що для вирішення цієї проблеми перспективним є використання біореактора з системою відбору піни з її подальшою переробкою і виділенням продукту. Крім того, можливе використання нових конструкцій ферментерів без барботажної системи аерації, яка стимулює піноутворення.

Таким чином, було виявлено основні проблеми, що виникають при масштабуванні процесу біосинтезу мікробних ПАР на шляху до промислового виробництва і визначено напрямки їх розв'язання.

Робота виконана в рамках проекту УНТЦ 3494.

Загричук О. М.

РОЗРОБКА БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ПРИЙОМІВ КУЛЬТИВУВАННЯ *IN VITRO* ТИРЛИЧУ ХРЕЩАТОГО (*GENTIANA CRUCIATA* L.) З ГЕОГРАФІЧНО ВІДДАЛЕНИХ ПОПУЛЯЦІЙ

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка

вул. М. Кривоноса, 2, м. Тернопіль, 46027, Україна

E-mail: zagrichuk_oks@mail.ru

Види роду *Gentiana* L. є цікавими об'єктами дослідження через їхню фармацевтичну цінність, обумовлену синтезом біологічно активних речовин (БАР) (Растительные ресурсы..., 1990; Лікарські рослини..., 1992; Страшнюк та ін., 2005). Серед видів даного роду в фармацевтичній медицині до недавнього часу використовувався тирлич жовтий (*G. lutea*) та дещо раніше тирлич крапчастий (*G. punctata*). Тирлич жовтий був включений до I-IX, а тирлич крапчастий до III-VII видань Державної фармакопеї СРСР. У зв'язку з недостатньою сировинною базою та неможливістю заготівлі лікарської рослинної сировини *G. lutea* та *G. punctata* у подальші видання Державної фармакопеї не включені. Для вирішення проблеми забезпечення фармацевтичної промисловості рідкісною рослинною сировиною використовують близькі за хімічним складом види. Ще одним шляхом вирішення даної проблеми є застосування біотехнологічних методів. Відомо, що близьким за якісним, але відмінним за кількісним вмістом БАР до наведених вище видів, є тирлич хрещатий (*G. cruciata*).

Виходячи із сказаного вище, метою даної роботи було отримання та дослідження культури тканин *G. cruciata* з географічно віддалених медоборської (природний заповідник "Медобори", Гусятинський р-н, Тернопільська обл.) і креницької (с. Креничі, Обухівський р-н, Київська обл.) популяцій.

У результаті проведених досліджень нами підібрано оптимальні умови для проростання насіння *G. cruciata* з обох популяцій. Завдяки поєднанню двох факторів, що порушують спокій насіння - холодної стратифікації при температурі 5-7°C протягом 1-1,5 місяців та обробки гіберелловою кислотою (1000 мг/л) протягом однієї доби, нам вдалося підвищити показники схожості насіння *G. cruciata* із с. Креничі до 67,2%, із заповідника "Медобори" - до 44%. За таких умов схожість насіння обох популяцій була найвищою у жовтні. Встановлено, що вегетативне розмноження *in vitro* рослин обох популяцій найкраще відбувалося у рідкому поживному середовищі МС (Murashige, Skoog, 1962) з половинним вмістом макро- та мікро солей (МС/2), доповненому 0,1 мг/л кінетину (Кін), а вкорінення – у цьому ж середовищі з 0,1 мг/л 1-нафтилоцтової кислоти. Мультиплікації рослин *G. cruciata* (с. Креничі) у найбільшій мірі сприяло агаризоване середовище МС/2, доповнене 1 мг/л 6-бензиламінопурину (БАП) і 0,2 мг/л Кін, на якому кількість експлантів, здатних формувати пагони (мікроклони), становила 62,3%, а кількість пагонів у розрахунку на один висаджений живець складала 7,35. Для ефективного мікроклонування тирличу хрещатого з іншої популяції (заповідник "Медобори") потрібні вдвічі менші концентрації цитокінінів БАП і Кін у поживному середовищі. При цьому на 69,4% висаджених експлантів відбувалося формування мікроклонів, кількість яких на один живець складала 5,94.

Встановлено, що калусогенез на корневих, стеблових і листових експлантах рослин креницької популяції та на корневих і листових експлантах рослин цього ж виду із заповідника "Медобори" найкраще відбувався на середовищі МС/2, доповненому 0,1 мг/л БАП і 1,0 мг/л 2,4-дихлорфеноксіоцтової кислоти. У той же час, для інтенсивнішого формування калюсу на стеблових експлантах рослин з медоборської популяції *G. cruciata* потрібен збільшений вдвічі вміст макро- та мікроелементів. Встановлено, що збільшення концентрації БАП у 2 рази (0,2 мг/л) порівняно із середовищем, що було оптимальним для індукції калусоутворення, сприяло підвищенню проліферативної активності клітин калусних культур різного походження. Зокрема, індекс росту за сирою масою калюсу кореневого походження (с. Креничі) у цьому випадку зростав у 1,5-2 рази.

Отже, нами підібрано оптимальні умови для проростання насіння, мікроклонального розмноження, а також індукції калусоутворення з різних типів експлантатів та тривалого вирощування культури тканин *G. cruciata* з географічно віддалених популяцій.

Звездін Г., Захарова О.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ *FUSARIUM GIBBOSUM* VAR. *ACUMINATUM*

Південний біотехнологічний центр в рослинництві УААН

Овідіопольська дорога, 3, м. Одеса, 65036, Україна

E-mail: olyza@rambler.ru

Більшість видів грибів роду *Fusarium* є збудниками захворювань сільськогосподарських рослин, зокрема кукурудзи (*Zea mays* L.), які об'єднуються назвою фузаріоз. Втрати урожаїв від фузаріозу обумовлені зниженням якості і кількості продукції і можуть досягати 50 %. Розвитку фузарієвих грибів сприяють зміни в кліматі (зокрема, підвищення вологості повітря у вегетаційний період). Основна роль в ураженні рослин і зерна кукурудзи належить грибам *F. gibbosum*, *F. graminearum*, *F. moniliforme*, *F. sporotrichoides*. Небезпека споживання харчової продукції, що виготовлена з інфікованої сировини, полягає у можливості отруєння мікотоксинами, які накопичуються унаслідок життєдіяльності фузаріїв і не руйнуються при термічній обробці.

Мета нашої роботи полягає у дослідженні молекулярно-генетичного поліморфізму *F. gibbosum* var. *acuminatum*, що уражує рослини кукурудзи. Матеріалом для дослідження слу-

гували 18 штамів *F. gibbosum* var. *acuminatum*, люб'язно надані відділом ентомології та фітопатології Селекційно-генетичного інституту - Національного центру насіннєзнавства та сортовивчення УААН (СГІ, м. Одеса). Методи дослідження: культивування штамів, виділення ДНК, RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) та ДП-ПЛР (довільно праймована полімеразна ланцюгова реакція), електрофорез в агарозних гелях, фотографування, комп'ютерна обробка даних ПЛР-аналізу.

Проведено ПЛР-аналіз вибірки з 18 штамів *F. gibbosum* var. *acuminatum* з використанням RAPD- і ДП-ПЛР за десятима праймерами, які дозволили унікально диференціювати штами. Спектри ДНК кожного штаму мали індивідуальні набори фрагментів ампліфікації та включали від 12 до 30 компонентів. Середня кількість ПЛР-фрагментів на праймер склала 11,9. Рівень поліморфізму серед штамів вибірки, що досліджували - 63 %. За даними ПЛР-аналізу сконструйована дендрограма філогенетичних відносин в межах дослідної вибірки. Дендрограма містить один кластер, який складається з трьох субкластерів: перший субкластер включає два штами (рівень патогенності одного штаму складає 35-59 %, викликає гниль паростків та зниження схожості рослин та їх загибель, другий має 100 % рівень патогенності і також приводить до загибелі паростків); до другого субкластеру увійшли три штами, які викликають в'янення та трахеомікоз стебел, приводять до загибелі 35 % паростків та у змішаних інокулюмах можуть підвищувати сумарну патогенність; третій субкластер містить 12 штамів, з різним рівнем патогенності. Окремою гілкою дендрограми виділено один штам, який за даними фітопатологічної оцінки СГІ є єдиним симбіонтом з вибірки, що досліджували. Мінімальний коефіцієнт генетичної відмінності штамів виявлено між двома високопатогенними штамами вибірки у третьому субкластері, який дорівнює 0,047. Найбільш відособленим на дендрограмі від штамів дослідної вибірки виявився штам-симбіонт, з максимальним коефіцієнтом генетичної відмінності в межах 0,600.

Таким чином, за допомогою ПЛР-аналізу проведена диференціація штамів *F. gibbosum* var. *acuminatum* і показаний ступінь їх відмінності за генетичними дистанціями. Чітких асоціацій між угрупованням штамів у дендрограмі та патогенністю не виявлено, тому подальша робота буде спрямована на розширення спектру молекулярних маркерів для дослідження молекулярно-генетичного поліморфізму *F. gibbosum* var. *acuminatum*, а також на виявлення фрагментів ампліфікації, що пов'язані з патогенними ознаками штамів.

Ігнатенко С., Пирог Т.

ВИВЧЕННЯ ХІМІЧНОГО СКЛАДУ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН, СИНТЕЗОВАНИХ *RHODOCOCCLUS ERYTHROPOLIS* ЕК-1

Національний університет харчових технологій

вул. Володимирська, 68, м. Київ, 01033, Україна

E-mail: svsergey@ukr.net

Упродовж останніх 20-30 років мікробні поверхнево-активні речовини (ПАР) є об'єктами інтенсивних прикладних досліджень, що зумовлено їх практичним використанням у процесах очищення ґрунту та води від нафти, ароматичних сполук (нафталін, пірен, флуорен) та ін. На кафедрі біотехнології мікробного синтезу Національного університету харчових технологій із забруднених нафтою зразків ґрунту виділено штам *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1, який синтезує ПАР при рості на гідрофобних (гексадекан, рідкі парафіни) субстратах.

Наші дослідження показали, що під час культивування в колбах на качалці *R. erythropolis* ЕК-1 синтезує як вільні, так і асоційовані з клітинами метаболіти з поверхнево-активними й емульгуювальними властивостями. У складі ПАР, синтезованих *R. erythropolis* ЕК-1 на гексадекані, було виявлено нейтральні ліпіди і гліколіпіди, якісний склад яких залежав від концентрації гексадекану, джерела азоту, наявності іонів заліза та масообмінних характеристик системи.

При вирощуванні *R. erythropolis* ЕК-1 у ферментаторі було встановлено, що склад ліпідів також залежав від рН середовища. Найбільший спектр ліпідів синтезувався бактеріями за

pH 8,0. Так, у складі позаклітинних ліпідів було виявлено гліколіпіди (трегалозо-6-ацилати, трегалозо-6-міколати, трегалозодіацилати, трегалозо-6-6'-диміколати), нейтральні ліпіди (міколові та жирні кислоти, триацилгліцероли, цетиловий спирт; метиловий ефір-*n*-пентадеканової кислоти) та фосфоліпіди. За зниження pH до 7,0 у складі полярних ліпідів були відсутні трегалозо-6-6'-диміколати, а у складі неполярних ліпідів було виявлено лише цетиловий спирт та метиловий ефір-*n*-пентадеканової кислоти. За підтримання pH на рівні 7,5 у складі позаклітинних ліпідів не ідентифікували лише трегалозо-6-6'-диміколати.

Дослідження зміни хімічного складу ліпідів упродовж процесу вирощування *R. erythropolis* ЕК-1 показало, що вихідні зразки супернатанту культуральної рідини (2 та 4 год культивування) характеризувалися наявністю слідових кількостей міколових кислот і цетилового спирту. Активний синтез нейтральних ліпідів спостерігався вже на 6 год культивування бактерій, зокрема у супернатанті культуральної рідини були виявлені неполярні ліпіди – цетиловий спирт і метиловий ефір-*n*-пентадеканової кислоти та полярні – міколові кислоти і триацилгліцероли. При цьому на 12 год у складі позаклітинних ліпідів з'являлися фосфоліпіди, а на 30 год 3-кетоз-2-алкіл жирні кислоти.

Накопичення гліколіпідів у супернатанті культуральної рідини було зафіксовано лише на 18 год культивування *R. erythropolis* ЕК-1. Так, першими у супернатанті культуральної рідини були виявлені трегалозодіацилати, а на 30 год вирощування бактерій у складі гліколіпідів були зафіксовані трегалозо-6-ацилати.

З літературних джерел відомо, що трегалозоміколати залишаються асоційованими з клітинними стінками *Rodococcus* упродовж всього періоду асиміляції гідрофобного субстрату, що дозволяє мікроорганізмам інтенсифікувати цей процес. Накопичення позаклітинних трегалозоміко- та трегалозодиміколатів було зареєстровано лише на 36 год культивування *R. erythropolis* ЕК-1 (кінець експоненційної фази росту), що дозволило підтвердити існуючі дані про роль цих сполук у взаємодії клітин із гідрофобним субстратом.

Казмірчук І.

ГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ КАРДІАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ

Буковинський державний медичний університет

пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58000, Україна

E-mail: www.bsmu.edu.ua

За інтегрованим показником ВООЗ, очікувана середня тривалість життя в Україні на 10 років нижча порівняно з країнами Євросоюзу та на 5 - щодо середньоевропейського рівня. Однією з провідних причин смертності є раптова смерть (РС), яка складає 20% випадків ненасильницької смерті. Протягом останніх років все більшої гостроти набуває проблема РС при відсутності органічних змін у серці.

На сьогодні існує достатня кількість даних про природу захворювань з високим ризиком РС і визначено, що багато з них генетично детерміновані. До групи небезпечних захворювань, що спричиняють РС належать синдром Бругада, Вольфа-Паркінсона-Уайта, гіпертрофічна кардіоміопатія, аортальний стеноз, тощо і характеризуються спільною ознакою - періодичною втратою відомості, що може бути першим або єдиним проявом хвороби.

З метою вивчення частоти і причин виникнення синкопальних станів нами проаналізовано 100 історій хвороб пацієнтів зі скаргами на періодичну втрату свідомості. Серед обстежених було 50% жінок та 50% чоловіків. Середній вік склав $55 \pm 2,5$ років. У 28% хворих виявлено вазовагальне порушення, 20% - кардіальне супсоре, 15% - ортостатичні порушення, 12% - синдром каротидного синуса, 7% - "ситуаційне" зомління, 2% - медикаментозне супсоре, 2% трійчасті невралгії, у решти 14% випадків причину синкопальних станів верифікувати не вдалось. При детальному вивченні причин кардіогенних супсоре у 30% хворих було виявлено АВ-блокаду, 20% - синдром WPW, 20% - аортальні вади серця, 10% - синдром Бругада, 10% - гіпертрофічну кардіоміопатію, 10% - надшлуночкову пароксизмальну тахікардію. Таким чи-

ном, у половини хворих причини кардіальних супсоре є генетично детермінованими. В таких випадках генетичні методи діагностики будуть вирішальними в постановці діагнозу.

Спадкові хвороби і захворювання зі спадковою схильністю зустрічаються в практиці лікарів всіх спеціальностей. Запровадження в практичну медицину результатів розшифрування геному людини дозволяє виявити людей з підвищеною чутливістю до того або іншого захворювання, розробляти ефективні схеми індивідуальної профілактики та лікування.

Карпуленко О., Постоєнко В.*, Антіпов І., Напненко О.*

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ВЕТЕРИНАРНИХ ІМУНОБІОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ ТА БІОЛОГІЧНОЇ СИРОВИНИ ЗА ПОКАЗНИКОМ "КОНТАМІНАЦІЯ ПЕСТИВІРУСАМИ"

Національний університет біоресурсів і природокористування України
*Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів
вул. Героїв Оборони 15, м. Київ, 03041, Україна
E-mail: karpasasha@ukr.net.

На сьогоднішній день гостро стоїть питання дослідження ветеринарних імунобіологічних препаратів (ВІП) та біотехнологічної сировини за показником контамінації сторонніми біологічними агентами. Одним із поширених контамінантів є пестивіруси.

Розповсюдженими методами діагностики контамінації ВІП та біотехнологічної сировини є вірусологічні та молекулярно-генетичні. Вірусологічні методи мають низький поріг чутливості порівняно з молекулярно-генетичними, потребують значних додаткових затрат матеріальних та трудових ресурсів (Напненко О.О., 2006).

Серед молекулярно-генетичних методів діагностики контамінації провідне місце займає полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР). Саме цей метод підняв лабораторну діагностику на принципово нову висоту - рівень визначення нуклеїнових кислот, що дає змогу провести пряме визначення інфекційного агента або генетичної мутації у будь-якому середовищі. До його переваг відносять високу чутливість, швидкість, специфічність, можливість захисту від псевдопозитивних та псевдонегативних результатів, пряме визначення наявності збудника інфекційних хвороб (Куликов В.В., 2006).

Пестивіруси - РНК-вмісні віруси родини *Flaviviridae*. Віріон складається з оболонки та нуклеотиду. Віріон сферичної форми 40-60 нм в діаметрі. Ядро ізометричне. Геном не сегментований містить одну молекулу лінійної РНК позитивної паляризації. Повний геном складає 12500 нуклеотидів. На 3'-кінці пестивірусних геномів не виявлено поліаденілування. Віріон складається з 4 структурних білків (ICTVdB Management, 2006).

Нами розроблено праймери до РНК пестивірусів, як для родового визначення даних збудників, так і для диференціації вірусу класичної чуми свиней. Розроблено тест-систему "ПЛР-пестивір" ТУ У 24.4-1924865-010-2007. Розпочато апробацію тест-системи для контролю якості ВІП та біотехнологічної сировини.

Розроблену тест-систему використано для контролю контамінації пестивірусами ряду ВІП та культур клітин. Отримані результати свідчать, що з 9 досліджуваних вакцин та культур вірусів, контамінованими пестивірусами були вірус хвороби Ауескі штамп "Арсський", вірус сказу штамп CVS. Відсутність контамінації у негативному контролі, а також наявність продукту ампліфікації довжиною 210 пар нуклеотидів у позитивному контролі, свідчать про достовірність отриманих результатів.

Кисельов Д.

ВИКОРИСТАННЯ МОЛЕКУЛЯРНИХ МАРКЕРІВ ДЛЯ ІДЕНТИФІКАЦІЇ СОРТІВ СМОРОДИНИ ЧОРНОЇ

Інститут садівництва УААН
вул Садова 23, м. Київ 27, с.Новосілки, 030277, Україна
E-mail: kiselevda@ukr.net

Смородина чорна (*Ribes nigrum*) є традиційною для України ягідною культурою і в сучасному інтенсивному ягідництві займає провідне місце. За останнє десятиріччя з'явилося

більше, ніж кілька десятків нових її сортів вітчизняної селекції, що відзначаються цілим рядом індивідуальних позитивних ознак, які сприяють розширенню ареалу вирощування цієї культури в різних зонах садівництва України. Разом з тим, цей вид характеризується значною варіабельністю сортових ознак залежно від умов культивування. Це спричиняє труднощі при ідентифікації сортів під час апробації сортових насаджень, захисті прав селекціонерів і т.п.

У світовій практиці для вирішення цих питань використовують молекулярно-біологічні методи і, зокрема ПЛР (полімеразну ланцюгову реакцію).

Метод ПЛР або специфічної ампліфікації ДНК відносно простий і не вимагає великих матеріальних витрат. З його допомогою вивчають структуру геному, розробляють генетичні карти, маркують гени, досліджують філогенетичні зв'язки, визначають ступінь гібридності, ідентифікують та паспортизують сорти, гібриди, лінії.

Літературні дані свідчать (Bayan M. Muzher et al., 2007), що для ідентифікації сортів смородини чорної використовують таку методику, як SSR ПЛР (simple sequence repeats), яка дозволяє досліджувати поліморфізм мікросателітних повторів, для яких, як правило, виявляють значну кількість алелей.

Для досліджень філогенетичних зв'язків та картування геному доцільно застосовувати ISSR-ПЛР (inter simple sequence repeats), що має ряд переваг у порівнянні з іншими модифікаціями ПЛР. По-перше, немає необхідності в попередньому секвенуванні досліджуваних послідовностей, по-друге, вивчається істотна частина геному, оскільки ділянки, що є комплементарними до праймерів ISSR, розміщені по всьому геному. Це необхідно для складання селекційних програм і створення нових сортів з певними ознаками.

З літературних джерел (Eve Dilworth et al., 2000; Zsolt Galli et al.; 2005; Rania A.A. Younis et al., 2007) було вибрано десять найбільш поліморфних праймерів ISSR та п'ять праймерів SSR для ідентифікації сортів та картування геному смородини чорної.

Відібрані нами праймери будуть використані в подальшій роботі для картування геному та паспортизації сортів чорної смородини вітчизняної селекції, зокрема Інституту садівництва УААН.

Клепач Г.^{1,2}, Мандзяк В.²

ХАРАКТЕРИСТИКА ТА БІОАНАЛІТИЧНЕ ВИКОРИСТАННЯ АЛКОГОЛЬОКСИДАЗИ МЕТИЛОТРОФНИХ ДРІЖДЖІВ *HANSENULA POLYMORPHA*

¹Інститут біології клітини НАН України

вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005, Україна

²Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка

вул. В. Івасюка, 11, м. Трускавець, 82200, Україна

E-mail: pavlishko@yahoo.com.ua

Селективний, точний та високочутливий кількісний аналіз спиртів і альдегідів – один з важливих напрямків у сучасній аналітичній практиці, включаючи клініко-токсикологічні дослідження, аналіз у фармацевтичній, мікробіологічній і харчовій промисловостях, екологічний моніторинг навколишнього середовища. Поряд з хімічними та фізико-хімічними підходами, усе більшого значення набувають ферментативні методи визначення спиртів і альдегідів (Гончар, 1999). Існуючі ферментативні методи аналізу етанолу за використання алкогольдегідрогенази (АДГ) є недостатньо селективними та дорогими. Альтернативною дегідрогеназному методу аналізу етанолу є оксидазний підхід з використанням алкогольоксидази (АО) метилотрофних дріжджів, яка в ролі кофермента містить міцно зв'язаний з білком ФАД (Woodward, 1990). Крім того, каталізована АО реакція є необоротною, що знімає ряд проблем, які існують у АДГ-методі.

Ефективними продуцентами АО є метилотрофні дріжджі родів *Hansenula*, *Pichia*, *Candida*, яка синтезується ними у великій кількості – до 37 - 40 % від сумарного клітинного білка при рості на метанолі, проте найбільше біотехнологічне значення має АО *H. polymorpha*, завдяки своїй підвищеній термостабільності та ширшій області рН-оптимуму.

Метою нашої роботи є розробка ефективної схеми очистки та фізико-хімічна і ензимологічна характеристика АО *H. polymorpha* із сконструйованого раніше в Інституті біології клітини НАН України безкаталазного штаму *H. polymorpha* K-105 (*gcr1catX*) зі знятою глюкозною катаболітною репресією синтезу АО. Фермент виділений з даного штаму має ряд переваг: повністю позбавлений слідів каталази, що особливо важливо при використанні пероксид-генеруючої здатності АО в аналітичних цілях, усунено можливість автопродукції пероксиду водню, що характерно для багатьох очищених препаратів АО у зв'язку з поступовим окисленням формальдегіду, попередньо зв'язаного з ферментом у формі ковалентного аддукту під час росту клітин на метанолі; є достатньо стабільним.

Розроблена ефективна схема очистки препарату АО *H. polymorpha*, яка включає механічне руйнування клітин у 50 мМ фосфатному буфері, рН 7,0 у присутності інгібіторів протеаз, центрифугування гомогенату, двостадійне фракціонування безклітинного екстракту сульфатом амонію та двостадійну колонкову іонообмінну хроматографію. Дана схема дозволила отримати препаративні кількості препарату фермента, стабільні при зберіганні при -10°C упродовж року без втрати вихідної активності. Отриманий препарат АО був гомогенним за результатами електрофоретичного аналізу і володів питомою активністю $25 \text{ мкмоль} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$ білка. Цей препарат ферменту послужив для вивчення характеристик АО.

Визначено кінетичні характеристики АО: методом подвійних обернених величин встановлено, що константа Міхаеліса-Ментен (K_m) АО для метанолу складає 0,58 мМ, етанолу – 4,86 мМ, формальдегіду – 9,36 мМ, визначено ізоелектричну точку (pI), яка рівна 6,2, отримано спектри поглинання, спектр кругового дихроїзму і власної флуоресценції ферменту, визначено оптимальне значення рН і температурний оптимум дії АО.

Препарат алкогольоксидази з питомою активністю $5 \text{ мкмоль} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$ білка було використано для розробки ензиматичного аналізу етанолу, метанолу, формальдегіду і їх сумішей.

Робота виконана за фінансової підтримки НАН України в рамках комплексної науково-технічної програми „Сенсорні системи для медико-екологічних та промислово-технологічних потреб”.

Кліжевська Х.

АСОЦІАЦІЯ ГЕТЕРОХРОМАТИНОВИХ ГЕНІВ І МОБІЛЬНИХ ГЕНЕТИЧНИХ ЕЛЕМЕНТІВ В ПРИРОДНИХ ПОПУЛЯЦІЯХ *DROSOPHILA MELANOGASTER* УКРАЇНИ

Київській національний університет імені Тараса Шевченка

вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01033, Україна

E-mail: www@univ.kiev.ua

Для гетерохроматинових генів продемонстрована асоціація з певними мобільними генетичними елементами (МГЕ). Це дозволяє припустити участь МГЕ у регуляції експресії гетерохроматинових генів у *D. melanogaster*, що в свою чергу може свідчити про ймовірність опосередкованого впливу мобільних елементів на процеси життєдіяльності клітини. Таким чином, вивчення наявності МГЕ в природних популяціях *D. melanogaster* та їх асоціація з гетерохроматином є актуальною проблемою.

В нашому дослідженні було обрано відомий зв'язок гену *Ken*, що кодує транскрипційний фактор та *LTR*-вмісний ретротранспозон 297 (з розміром 413 п.о.).

Ми шукали наявність цих асоціацій у 9 природних популяціях *D. melanogaster* взятих з різних міст України (Київ, Одеса, Лубни, Магарач, Варва, Пирятин, Умань, та 2 популяції з м. Чорнобиль) за допомогою методу ПЛР. З кожного зразка ДНК, виділеного з особин кожної окремої популяції, були отримані продукти ПЛР розміром 138 п.о., що відповідає фрагменту гену *Ken*; 233 п.о. - фрагмент 297 ретротранспозону та сумарний продукт розміром 1300 п.о., що відповідає асоціації МГЕ-ген. Таким чином, така асоціація є характерною для всіх природних популяцій *D. melanogaster* України.

Книш О., Сатарова Т.

ВИРОЩУВАННЯ МІКРОКЛОНІВ МІНІАТЮРНИХ ТРОЯНД В УМОВАХ *IN VITRO*

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара

вул.Казакова 24, м. Дніпропетровськ, 46050, Україна

E-mail: Satarova2008@yandex.ru

У промисловому квітникарстві багатьох країн троянди займають одне з провідних місць. Крім того, останнім часом набула поширення горшкова культура міні-троянд (Кушнір, 2005).

Серед величезного розмаїття троянд різних садових груп, що налічують понад 30 тисяч сортів, особливе місце належить карликовим або мініатюрним (*Rosa chinensis minima* (Sins) Voss), які наче є крихітними чарівними копіями звичайних троянд.

Мініатюрні троянди - це компактні густостеблісті карликові кустики заввишки від 5 до 25, а найбільші - 45 см, з витонченими маленькими листочками і крихітними ароматними квітками діаметром 1,5-4,5 см, розташованими окремо або в суцвіттях з трьох і більше (до 15) квіток. Спектр кольорів квіток у сортів цієї групи надзвичайно багатий. Основний спосіб розмноження мініатюрних троянд - живцювання. Вирощені з живців кореневласні рослини ростуть повільно і зберігають карликовість. Якщо ж їх прищепити на підщепу, вони збільшуються і втрачають свою найціннішу якість - мініатюрність. Коренева система кореневласних троянд займає мало місця, тому вони добре ростуть у горщиках. Важливою біологічною особливістю мініатюрних троянд є дуже раннє, тривале, багаторазово повторюване, майже безперервне цвітіння (Клименко, 1998).

Традиційні методи вегетативного розмноження міні-троянд не в змозі забезпечити достатню кількість посадкового матеріалу, тому широке застосування має метод мікроклонального розмноження (Кушнір, 2005).

Розмноження в умовах повного контролю є дуже перспективним для селекції сортів на стійкість до деяких захворювань та несприятливих умов вирощування. Крім того, мікроклональне розмноження омолоджує рослину (Петоян, 1983).

Метою роботи була розробка елементів біотехнології мікроклонального розмноження мініатюрних троянд. Об'єктами слугували троянди різних сортів (Minuet, Fresh Pink, Insel, Baby Carnaval, City, Friesia).

Апікальні та латеральні бруньки розміром до 5 мм, видалляли з горшкових рослин, поверхнево стерилізували та експлантували на живильне середовище Мурасіге-Скуга (MS), модифіковане у двох варіантах: MS+0,5 мг/л 6-бензиламінопурину (6-БАП) (R1) та MS+1 мг/л 2,4-дихлорфеноксіоцтової кислоти (2,4-Д) (R2). Культивування проводили при 27 °C на світлі.

Через 30 діб спостерігали на середовищі MS+ 0,5 мг/л 6-БАП утворення від 1 до 5 пагонів на бруньку, які мали довжину до 1 см. Пагони мали зелений колір. Бруньки сортів City та Friesia формували пагони в культурі *in vitro* за даних умов з частотою 100%, у сортів Minuet, Fresh Pink, Baby Carnaval 30% експлантованих бруньок формували пагони на середовищі R1. На середовищі R1 не спостерігали коренеутворення та калусогенез.

Через 30 діб культивування на середовищі MS+1 мг/л 2,4-Д спостерігали калусогенез 50% експлантів у сортів Minuet, Baby Carnaval, Insel, City і 20% експлантів у сортів Fresh Pink, Friesia. Калуси, які сформувалися, представляли собою однорідну тканину сніжно-білого кольору до 3 см у діаметрі. У частини бруньок за дії 2,4-Д (на середовищі R2) окрім калусогенезу спостерігали пагоноутворення з частотою 30%. При цьому на кінець місяця спостерігали калусогенез на листках та пагонах експлантів у сортів Insel та City.

Таким чином, в культурі бруньок мініатюрних троянд в залежності від фітогормонального складу середовища отримано такі морфогенетичні реакції як пагоноутворення та калусогенез. Пагоноутворення на середовищі MS+0,5 мг/л 6-БАП може слугувати основою для технології мікроклонального розмноження мініатюрних троянд.

Кожар О., Коломієць Ю.

**ВИВЧЕННЯ РЕГЕНЕРАЦІЙНОЇ ЗДАТНОСТІ РІПАКУ (*BRASSICA NAPUS L*)
В УМОВАХ *IN VITRO***

Національний університет біоресурсів і природокористування

вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, Україна

E-mail: OlyaKozhar@rambler.ru, julyja@i.ua

Завдяки широкому попиту на рослинні олії і високобілкові корми ріпак протягом останнього десятиріччя значно зміцнив свої конкурентні позиції на міжнародному ринку, а створення сучасних високопродуктивних сортів з відмінними біохімічними показниками (низький вміст глюкозинолатів та відсутність ерукової кислоти) дало імпульс до впровадження у сільськогосподарське виробництво, передусім, як олійної культури.

Ріпак - олійна культура, яка сьогодні займає друге місце у світі по виробництву харчової і технічної олії, а отриманий після переробки насіння шрот використовують як цінний корм у тваринництві. Ріпакова олія також має велике значення як сировина для виробництва біодизельного палива.

В останні роки інтенсивно ведеться селекційна робота, направлена на покращення агрономічних показників озимого і ярого ріпаку: підвищення їх стійкості до грибних, бактерійних, вірусних захворювань, абіотичних чинників і гербіцидів, поліпшення хімічного складу олії тощо. Ці завдання вирішуються за допомогою методів як традиційної селекції, так і сучасної біотехнології. Для масового одержання рослин використовують методи клітинної інженерії, які забезпечують високий коефіцієнт розмноження, добір рослин з селекційно-цінними ознаками в умовах *in vitro*.

Метою нашої роботи було вивчення впливу складових поживного середовища на ефективність непрямого морфогенезу озимих і ярих сортів ріпаку (*B. napus L.*).

Об'єктами досліджень були сорти озимого та ярого ріпаку: "Оділа", "Демерка", "Вектора" і "Жовтун", "Антоціан", "Хайола". Стерилізацію насіння проводили послідовною обробкою 70%-вим розчином етанолу, розчином "Білизни" в концентрації 1:2, потім тричі відмивали стерильною дистильованою водою. Пророщували насіння в чашках Петрі на агаризованому безгормональному середовищі за Мурасіге-Скугом (МС). Асептичні рослини переносили на середовище МС, доповненому 1,0 мг/л 6-бензиламінопурину. Калус отримували після 2-3-тижневого культивування без освітлення на середовищі МС і температурі 24-25°C.

З метою розробки ефективної методики регенерації ріпаку з калусу в культурі *in vitro* були проведені дослідження по підборі оптимального складу регенераційного середовища. Нами були використані три варіанти середовища, які відрізнялися за вмістом регуляторів росту: МС1 – 0,5 мг/л 6-БАП, МС2 – 1 мг/л 6-БАП + 2 мг/л НОК, МС3 – 2,5 мг/л 6-БАП + 1 мг/л НОК. Пробірки переносили в світлову культуральну кімнату. Найкраща регенераційна здатність для всіх генотипів ріпаку спостерігалася на середовищі МС3 з додаванням 2,5 мг/л 6-БАП + 1 мг/л НОК. У процесі культивування на поверхні калусу утворювалися зелені ділянки клітин. На 7 тиждень культивування з морфогенного калусу ріпаку утворювалися повністю сформовані пагони довжиною 3 – 4 см.

Частота регенерації рослин залежала від генотипу досліджуваних сортів. У всіх генотипів ріпаку рівень регенераційної здатності (відношення числа одержаних регенерантів до кількості індукованих калусів) на середовищі МС3 знаходився в межах 20%. Високою частотою регенерації характеризувалися калусні лінії сортів "Оділа" і "Вектра", для яких вона становила 19%, а для сорту "Жовтун" цей показник не перевищував 16%.

У результаті проведених експериментів визначено частоту регенерації для кожного із середовищ, що дало змогу визначити оптимальний для регенерації вміст регуляторів росту в середовищі.

Кондратюк Г., Новак Т.

ІНДУКЦІЯ ОРГАНОГЕНЕЗУ МЕТАСЕКВОЙЇ РОЗСІЧЕНОШИШКОВОЇ *METASEQUOIA GLYPTOSTROBOIDES* В УМОВАХ *IN VITRO*

Національний університет біоресурсів і природокористування

вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна

E-mail: AnnaKondratyuk@i.ua

Вихідним матеріалом для введення метасеквойї розсіченошишкової в культуру *in vitro* служили вегетативні та пазушні бруньки, верхівки молодих пагонів від сіянців 2-3-річного віку та верхівки річного приросту 50-річного дерева метасеквойї.

За основу поживних середовищ брали неорганічні солі (мікро-та макро-) за Мурасігом і Скугом, вітаміни, регулятори росту, складні органічні домішки. Культивували експланти при 20°C і освітленості люмінесцентними лампами.

Як джерело енергії в живильних середовищах використовували сахарозу, яка одночасно відіграє роль осморегулятора під час регенерації рослин. Вітаміни посилюють диференціацію, тому ми використовували тіамін, нікотинову кислоту, піридоксин.

Основним чинником індукції органогенезу служили регулятори росту 2,4-дихлорфеноксицтова кислота (2,4Д), α -індолілоцтова кислота (ІОК), 6-бензиламінопурин (БАП). Кількість експлантів у кожному варіанті дослідження коливалась від 20 до 30 штук. Спостереження за реалізацією морфогенетичного потенціалу проводили щотижня.

Таблиця 1

Середовища для культивування тканин метасеквойї

Складові середовища	Призначення середовища		
	для утворення калусу	для одержання рослин-регенерантів	
Мінеральні складові по MS	присутні	присутні	присутні
Сахароза	30 г	20 г	30 г
Глюкоза	-	50	-
Мезоінозит	100	100	100
Гідролізат казеїну	1000	500	100
Вітамін В1	0,5	0,5	0,5
Вітамін В6	0,5	0,5	0,5
Аденін	-	20	-
Нікотинова кислота	5,0	5,0	5,0
БАП	-	2,0	1,0
Кінетин	-	3,0	-
ІОК	-	0,3	-
2,4Д	1,0	-	0,05
Агар	0,7%	0,7%	0,7%

Таблиця 2

Реалізація морфогенетичного потенціалу бруньок метасеквойї в умовах *in vitro*

Середовище	Загальна кількість експл.,шт.	Кількість експлантів з реалізованим морфогенетичним потенціалом утворення					
		всього		пагонів		придаткових бруньок	
		шт.	%	шт.	%	шт.	%
MS+БАП (0,5мг/л)+ ІОК (0,5 мг/л)	25	18	72	15	60	3	12
MS+2,4Д (0,3 мг/л)	32	21	65,6	5	15,6	16	50

Коновалова А., Сахацький М.

БІОБЕЗПЕКА ПРИ РОЗВЕДЕННІ СТРАУСІВ

Національний університет біоресурсів і природокористування України

вул. Генерала Родимцева, 19, м. Київ, 03041, Україна

E-mail: anneta.konvalova@rambler.ru

Якісне харчування є однією з основних складових здорового способу життя. М'ясо страусів, завдяки своїм високим смаковим властивостям, надзвичайно низькому вмісту жирів та багатому набору мікроелементів користується високим попитом. Крім м'яса, основною продукцією страусівництва є також шкіра, яйця, пір'я, субпродукти і живі тварини. Цим обумовлена все більша популярність страусівництва в Україні.

Більш ніж двадцять мільйонів років тому пращури теперішніх страусів населяли широкий пояс, що йде від Іспанії на захід, вздовж північного узбережжя Середземного моря до Китаю на сході. В Україні африканські страуси з'явилися в кінці XIX століття - на початку XX. Завіз їх у свою садибу, що в Асканії-Новій, барон Фрідріх Фальц-Фейн.

Зараз в Україні діють більше ста страусиних господарств. В с. Майське Синельниківського р-ну Дніпропетровської обл. є ферма з розведення страусів, яка належить підприємству "Агросоюз". На сьогодні там вирощують понад 2,5 тисячі африканських страусів. Також збудована племінна ферма, де утримуються 450 південноафриканських чорношкіх і голубошкіх страусів, оскільки вони найбільш пристосовані до умов розведення і утримання.

Страуси у багатьох аспектах відрізняються від традиційних видів домашньої птиці і ці відмінності потрібно враховувати при їх розведенні:

Високий процент причин смерті, які непов'язані з інфекційними хворобами;

Чутливість до стресу;

Відносна резистентність до важких хвороб домашньої птиці;

Особлива структура шкарлупи страусиних яєць.

Однією з важливих проблем при розведенні страусів є чутливість тварин до стресу та інфекційних захворювань. Від 80 до 90% страусенят помирають не від інфекційних хвороб, а від чутливості до стресу. Внаслідок цього розвиваються хвороби такі як:

Закупорка шлунка;

Ентерит, як наслідок порушення мікрофлори кишечника;

Хвороби пов'язані з кінцівками;

Хвороби верхніх дихальних шляхів;

Мегабактеріоз страусенят являється єдиною інфекційною хворобою, яка призводить до поголовної смертності. Збудники хвороби - дикі птахи. Хвороби Ньюкасла та пташиний грип можуть викликати лише незначну смертність. Основна причина стресу страусів – це відчуття самотності. Тому дуже важливо направляти зусилля на підтримку приподного захисту організму. Біобезпека - це ряд заходів, які направлені на захист тварин від інфекційних хвороб під час промислового розведення.

Основний напрямок селекційно-племінної роботи ферми спрямований на відбір багатоплідних тварин, резистентних до захворювань, стійких до стресу та відпрацювання заходів біобезпеки, оптимального раціону годівлі молодняка.

Корня Т., Ігнатова С.

КУЛЬТИВУВАННЯ *IN VITRO* ПИЛЯКІВ ПШЕНИЦІ В ПРИСУТНОСТІ КУЛЬТУРАЛЬНОЇ РІДИНИ ГРИБА-ПАТОГЕНА *FUSARIUM GRAMINEARUM* SCHWABE

Південний біотехнологічний центр в рослинництві УААН

Овідіопольська дорога, 3, м. Одеса, 65036, Україна

E-mail: odonata@mail.ru

Фітопатогенні гриби роду *Fusarium* широко розповсюджені в ґрунті та здатні вражати багато видів сільськогосподарських культур, у тому числі й пшеницю та негативно впливати

на якість та кількість врожаю (Бабаянц, 2007). Особливо небезпечним грибом слід виділити *Fusarium graminearum*, який є збудником фузаріозу колосу (Билай, 1977). Для створення стійких до грибних патогенів сортів пшениці потрібно приблизно 10 років селекційної роботи, тому на деяких етапах відбору доцільним є залучення методів біотехнології, а саме: селекції *in vitro* та методу культивування пиляків пшениці, що полягає у феномені андрогенезу (Bruins, 1998; Корня, Ігнатова, 2008). Культивування пиляків на селективному фоні збудника фузаріозу колосу апіорно передбачає отримання толерантних до метаболітів гриба *F. graminearum* рослин-регенерантів. Тому, метою роботи було вивчення впливу фільтрату культуральної рідини (ФКР) різних етапів приготування на індукцію новоутворень та регенерацію подвоєних гаплоїдів пшениці.

Як матеріал використовували ізольовані пиляки сортів та ліній ярої пшениці: Superb, Domein (сприйнятливі), та лінії подвоєних гаплоїдів отриманих від гібриду Superb x Ringo Star, де Ringo Star - стійкий до фузаріозу колосу сорт. Пшеницю вирощували у камері штучного клімату. В якості селективного фактору використовували ФКР *F. graminearum* Schwabe штаму *ab* у концентрації 5 і 15 % від об'єму живильного середовища 190-2. ФКР готували культивуванням гриба на рідкому середовищі Чапека впродовж 21 доби з наступною стерилізацією рідини фільтрами Millipore 0,22 мкм (Корня, Ігнатова, 2008). Пиляки в стадії сильновакуолізованої мікроспори висаджували на первинне індукційне середовище 190-2 у різних варіантах. Контрольними варіантами живильних середовищ слугували: 190-2 (стандартне), 190-2 з 5 та 15 % середовища Чапека, що відповідали варіантам концентрацій готових ФКР. Сформовані новоутворення пересаджували далі на модифіковане середовище MS та культивували далі до появи регенерантів за раніше описаною методикою (Лобанова, Жосонар, 2006).

Оскільки ФКР додавали в первинне індукційне живильне середовище для культивування пиляків, то доцільним стало вивчення впливу ФКР та живильного середовища Чапека на появу новоутворень з пиляків. На всіх варіантах живильних середовищ спостерігали інгібуючий в порівнянні з контролем вплив ФКР на появу новоутворень. При цьому у сприйнятливого до фузаріозу колосу сорту Superb на варіантах з ФКР новоутворень не спостерігали зовсім. У сорту Domein зменшення кількості новоутворень було майже у 4,5 рази на живильному середовищі з ФКР як у концентрації 5 %, так і 15 %. У ліній пшениці Superb x Ringo Star спостерігали як повне інгібування появи новоутворень, так і часткове зменшення їх кількості у 1,5-6 разів в порівнянні з контролем.

Таким чином, інгібування появи новоутворень з пиляків пшениці загалом залежить від виділених грибом *F. graminearum* метаболітів в ФКР під час його приготування, в той час коли додавання попередника ФКР, а саме - живильного середовища Чапека в середовище для культивування пиляків не впливало на кількість сформованих новоутворень в порівнянні з контролем. Виходячи з цього можливо регулювати систему добору *in vitro* толерантних рослин, змінюючи умови культивування патогенного гриба для одержання ФКР з потрібними селективними властивостями. Отже, використання ФКР в культурі пиляків хоча і перспективний метод отримання толерантних до фузарієвих метаболітів рослин-регенерантів подвоєних гаплоїдів, та все ж потребує подальших вивчень.

Кос Я., Ребець Ю., Сибірний А.

КЛОНУВАННЯ ТА НАДЕКСПРЕСІЯ ГЕНА FBP1 В КЛІТИНАХ ДРІЖДЖІВ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Інститут біології клітини НАН України

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів, 79005

E-mail: yesenia_kos@yahoo.com

Вдосконалення штамів дріжджів - продуцентів етанолу є одним із важливих завдань сучасної біотехнології. Сучасні комерційні штами дріжджів *S. cerevisiae* практично досягнули максимального теоретичного рівня алкогольної ферментації. Одним із способів подальшого

підвищення акумуляції етанолу є лімітування росту та накопичення біомаси. Це може бути досягнуто шляхом зниження внутрішньоклітинного пулу АТФ. Фруктозо-1, 6 – біфосфатаза є одним із ключових ферментів глюконеогенезу, що здійснює гідроліз D- фруктозо-1,6-біфосфату до D- фруктозо-6-фосфату. Зворотня реакція фосфорилування здійснюється за участю фосфофруктокінази. Дана реакція є АТФ-залежною. Одночасна дія цих двох ферментів у клітині приводить до утворення футильного (порожнього) циклу і до втрат АТФ.

У живих клітинах активність гену *FBP1*, що кодує фруктозобіфосфатазу, підтримується лише на базальному рівні як результат кatabолічної репресії, кatabолічної інактивації, інгібування АМФ та фруктозо-2,6-біфосфатом. Для клонування гена *FBP1* були використані модифіковані праймери. Щоб уникнути пероксисомальної деградації білка через убіквітінування була введена заміна у 2 кодоні, що призвело до амінокислотної субституції (Про\Сер) в рекомбінантному протеїні. Ампліфікований ген був клонований у плазмідний вектор pUC57 методом T/A клонування. Для забезпечення коректної термінації і процесингу мРНК гена *FBP1* також у вектор було субклоновано термінатор з гену *CYC1*. Для забезпечення експресії даного гену нами було використано різноманітні промотори - сильний конститутивний із гена гліцеральдегідфосфатдегидрогенази, індукцйбельний із гена галактокінази, та репресйбельний із кислої фосфатази. Промотори були ампліфіковані і субклоновані у ділянку перед рамкою зчитування гена. Плазміди для перенесення отриманих касет у дріжджі *S. cerevisiae* було сконструйовано та було досліджено вплив надекспресії гена *FBP1* на ріст клітин і акумуляцію етанолу.

Костенко В.

АНАЛІЗ ЛОКОМОТОРНОЇ АКТИВНОСТІ ІМАГО ЛІНІЙ *DROSOPHILA MELANOGASTER* MEIG, ЯКІ НЕСУТЬ РІЗНІ МУТАНТНІ АЛЕЛІ ГЕНА WHITE

Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна

пл.Свободи, 4, м. Харків, 61077, Україна

E-mail: 4elovekmolekula_@mail.ru

Локомоторна активність (ЛА) – одна з найбільш універсальних ознак живого і являється компонентом майже всіх складних реакцій поведінки і актив поведінки. ЛА піддається об'єктивному підрахунку та її рівень можна кількісно оцінити.

Drosophila melanogaster – класичний модельний об'єкт для дослідження реакцій і актив поведінки тварин. Одним із найважливіших напрямків в генетиці поведінки дрозофіли являється вивчення плейотропних ефектів пігментних морфологічних мутацій, які впливають на колір тіла та очей. Деякі попередники синтезу пігментів одночасно є вихідними для синтезу нейроактивних речовин. В ЦНС дрозофіли знайдено активний комплекс нейрогенів, функція продуктів яких пов'язана з регуляцією локомоторної активності. Отже, пігментні мутації є цікавими для генетики поведінки. У зв'язку з цим, метою даної роботи було проведення оцінки локомоторної активності імаго ліній *D. melanogaster*, які несуть різні мутантні алелі гена *white*.

Матеріалом досліджень служили мутантні лінії *D. melanogaster white*, *white^{apricot}*, *white^{satsuma}* і лінія дикого типу *Canton-S* (контроль) із колекції кафедри генетики та цитології Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. Імаго дрозофіл вирощували на стандартному цукрово-дріжджовому середовищі. Імаго розділяли за статтю у перший день після виходу із пупарія. У дослідах використовували тільки віргіних особин 3-5 добового віку. Тестування на локомоторну активність проводили без додаткового наркотизування мух. Оцінку спонтанної локомоторної активності проводили індивідуально за методикою відкритого поля (Connolly K., 1967). Для цього імаго дрозофіли поміщали до чашки Петрі, дно якої було розкреслено на квадрати зі стороною 5 мм. Спостереження проводили протягом двох хвилин, враховували загальну довжину пробігу кожної особини. Далі розраховували середню довжину пробігу для самців та самок кожної лінії. Всього було проаналізовано 238 самок і 232 самця. Статистичну обробку показників, що отримали, проводили за загально прийнятими методами (Рокицький, 1973).

Було показано, що вибрані для аналізу лінії дрозофіли розрізняються між собою за рівнем локомоторної активності. При вивченні спонтанної локомоторної активності встановлено, що найбільше значення за цим показником було характерне для самиць і самців лінії *white^{satsuma}* і сягало 89,1 од./2 хв для самок, а для самців – 119,3 од./2 хв. Найменше значення дослідженого показника – спостерігалось для самок і самців мутантної лінії *white* і сягало відповідно 32,24 од./2 хв – для самок і 44,41 од./2 хв – для самців.

В зв'язку з тим, що мутація *white* супроводжується блокуванням синтезу пігменту очей, можна припустити, що низькі показники локомоторної активності цієї лінії можуть бути обумовлені порушенням синтезу нейроактивних речовин, що узгоджується з даними літератури (Ерман, Парсон, 1984; Бензер, 1975).

Кочубей Т.

ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ФІТОТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ ІЗОФОРМ ЛЕКТИНУ *PHASEOLUS VULGARIS* НА КОРЕНЕВУ МЕРИСТЕМУ *ALLIUM CEPA*

Інститут молекулярної біології та генетики НАНУ

вул. акад. Заболотного, 150, м.Київ, 03143, Україна

E-mail: kochubei2009@mail.ru

Лектини - клас білків, що мають властивість сприймати та розшифровувати інформацію, носіями якої є вуглеводи та вуглеводні залишки. Ці речовини поширені у всіх живих організмах від вірусів до людини. На сьогоднішній день, завдяки широкому спектру біологічних активностей, ці білки використовуються у багатьох галузях: біології, медицині, фармакології та гістології. Незважаючи на широке практичне застосування лектинів у багатьох галузях, деякі їхні властивості, зокрема вплив на ріст та хромосомний апарат живих організмів потребує вивчення.

Метою нашої роботи було дослідити вплив ізоформи лектину квасолі звичайної (ФГА сумарного препарату), який складається з комбінації двох типів субодиниць L і E, на клітинах рослини. З поміж багатьох тест-систем, як зручну модель, ми обрали клітини апікальної меристеми цибулі (*Allium test*).

Для даної моделі було з'ясовано, що препарат інгібує процес поділу клітин, найбільший ефект викликала найменша концентрація 1мкг/мл. При вивченні хромосомного апарату після обробки лектином було показано, що саме при концентрації 1 мкг/мл спостерігали найбільшу кількість хромосомних перебудов. Також нами було досліджено енергію проростання корінців цибулі після обробки препаратом ФГА (сумарного). Отримані результати вказували на збільшення енергії проростання на 72 годину відносно контролю. Окрім цього, з використанням культур клітин ссавців отримано попередні дані, що свідчать про пригнічення росту клітин модельного об'єкту *in vitro* після обробки лектином.

Таким чином дія лектинів залежить від типу клітин та концентрації препарату. Спираючись на отримані дані можна зробити висновок, що ФГА (сумарний) володіє цитотоксичним ефектом відносно культури клітин ссавців. Відносно рослинних клітин встановлена стимулююча дія на ріст та мітотичний індекс, що супроводжується збільшенням кількості хромосомних перебудов.

Кравець Н.

ОТРИМАННЯ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ РОСТУ КУЛЬТУРИ ТКАНИН І ОРГАНІВ ТИРЛИЧУ ЗВИЧАЙНОГО (*GENTIANA PNEUMONANTHE* L.)

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка

вул. М. Кривоноса, 2, м. Тернопіль, 46027, Україна

E-mail: kravec1979@mail.ru

Тирлич звичайний (*G. pneumonanthe*) – європейсько-кавказько-сибірський вид, поширений у Скандинавії, Середній та Атлантичній Європі, на півночі Середземномор'я, Балканах. В Україні зрідка трапляється майже в усіх (за винятком Криму) ботаніко-географічних райо-

нах на вологих луках, по околицях боліт, біля джерел, на узліссях, серед чагарників, до гірського лісового поясу. Настій, відвар з рослин *G. pneumonanthe* вживають при хворобах легень, респіраторних інфекціях, як спазмолітичний засіб, при шлунково-кишкових захворюваннях, скрофульозі, шумі у вухах, як допоміжний засіб при родах; місцево відвар використовують при ударах, як загальнозміцнюючий і антигельмінтний засіб та ін.

Зважаючи на подібність хімічного складу *G. pneumonanthe* до офіційного виду *G. lutea*, перспективним є його використання у медицині. Ще одним шляхом вирішення проблеми збереження біорізноманітності рослинного світу та забезпечення фармацевтичної промисловості рослинною сировиною є застосування біотехнологічних методів та прийомів. Виходячи із сказаного вище, метою даного дослідження було введення *G. pneumonanthe* в культуру *in vitro*.

Вихідним матеріалом для досліджень слугувало насіння *G. pneumonanthe* з двох популяцій: корюківської (Крюківське лісництво, Чернігівська область) та вигодської (сmt. Вигода (Долинський район Івано-Франківська область, 450-500 м н.р.м.).

У результаті проведених досліджень встановлено, що насіння *G. pneumonanthe* обох популяцій краще проростає на світлі, ніж у темряві. Завдяки поєднанню двох факторів, що порушують спокій насіння – холодної стратифікації при температурі 5-7°C протягом 1-1,5 місяців та обробки гібереловою кислотою концентрацією 1000 мг/л протягом однієї доби, нам вдалося підвищити показники схожості насіння *G. pneumonanthe* із Корюківського лісництва до 73,2%, із с. Вигода – до 58,5%. За таких умов схожість насіння рослин з першої популяції була найвищою у вересні, з другої – у жовтні.

Оптимальним для мультиплікації *G. pneumonanthe* з вигодської та корюківської популяцій було агаризоване середовище МС/2, доповнене 0,2 мг/л БАП і 0,2 мг/л Кін. За таких умов на 74,7% експлантів рослин корюківської та 66,8% вигодської популяцій формувалися мікрোকони, кількість яких у розрахунку на один живець складала 6,32 та 7,21 відповідно.

Встановлено, що калусогенез на кореневих, стеблових і листових експлантах рослин *G. pneumonanthe* з обох популяцій найкраще відбувався на середовищі МС/2, доповненому 0,1 мг/л БАП і 0,5 мг/л 2,4-Д. Для проліферації калусів листового та стеблового походження *G. pneumonanthe* від рослин корюківської і вигодської популяцій більшою підтримуючою здатністю характеризувалося середовище із вищою (0,2 мг/л) концентрацією БАП, тоді як проліферативна активність кореневого калусу була кращою на тому ж середовищі, яке використовувалося для індукції калусогенезу.

Шляхом двоетапного вирощування нами отримано культуру ізольованих коренів *G. pneumonanthe* з обох популяцій без використання генетичної трансформації. Показано, що на першому етапі середовище МС/2, доповнене 0,1 мг/л Кін та 0,5 мг/л НОК, у найбільшій мірі індукувало утворення бічних коренів. Ріст бічних коренів у довжину (другий етап культивування) інтенсивно відбувався на середовищі МС/2 без фітогормонів.

Отже, нами досліджено особливості введення в культуру *in vitro* тирличу звичайного з географічно віддалених популяцій. Підібрано умови для проростання їх насіння *in vitro*, мікророзмноження рослин, індукції та проліферації калусів кореневого, стеблового і листового походження та отримано культуру ізольованих коренів.

Криловська С., Кляченко О.

ОТРИМАННЯ ЗАКРІПЛЮВАЧІВ СТЕРИЛЬНОСТІ ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ (*BETA VULGARIS L.*) БІОТЕХНОЛОГІЧНИМИ МЕТОДАМИ

Національний університет біоресурсів та природокористування України

вул. Героїв Оборони, 15, Київ, 03041, Україна

E-mail: Krylovskaya.sv@mail.ru

Селекційний процес цукрового буряку дуже тривалий, тому розробка методу клонального мікророзмноження цукрового буряку представляє великий інтерес для генетико-селекційних робіт з цією важливою сільськогосподарською культурою. Роботи по культиву-

ванню різних ізолюваних тканин і органів цукрового буряку показали їх високу морфогенетичну активність. (Кляченко, 2000-2003).

Біотехнологічні методи широко застосовують у селекційній практиці як для розмноження і збереження цінних генотипів, так і для створення нових вихідних матеріалів цукрових буряків. Основою створення нових високопродуктивних гібридів цукрових буряків є рекурентна селекція, що базується на збереженні та підвищенні концентрації бажаних генів.

Основними етапами селекційного процесу при створенні гібридів цукрових буряків є отримання ліній закріплювачів стерильності О-типів шляхом примусового самозапилення і використання цитоплазматичної чоловічої стерильності. Самозапилення призводить до переводу генів в гомозиготний стан, що веде за собою збільшення однорідності потомств самозаних рослин з підвищенням покоління інбридингу, утворення нових спадкових типів, та прояву інбредної депресії (Балков, 1990).

Об'єктом досліджень взято сорти та гібриди цукрових буряків: "Ялтушківський одностінний 64", "Білоцерківський ЧС 90", "Ялтушківський ЧС 72". Для отримання мікроклонів використовували шліфоване насіння та експланти із рослин і коренеплодів, які вирощувались у відкритому ґрунті.

Метою роботи було підібрати оптимальні стерилізуючі речовини та їх концентрації, визначити оптимальний склад живильного середовища (гормональне та безгормональне) та визначити які саме експланти цукрових буряків є оптимальними для прямої регенерації.

Під час дослідів було отримано багато експериментальних даних та зроблено фотографії.

Курята О., Костенко С.

СПАДКОВІ ХВОРОБИ КРОЛІВ

Національний університет біоресурсів і природокористування України

вул. Генерала Родимцева, 19, Київ, 03041, Україна

E-mail: baby-doll@gala.net

Кролівництво — важлива галузь тваринництва, що здатна швидко нарощувати об'єми кінцевої продукції. До основної продукції кролівництва належить м'ясо кролів — ніжний, смачний дієтичний продукт, легко засвоюється організмом людини, містить понад 90% білка (у яловичині — 62%) та шкірки. Кролі швидко досягають статевої зрілості, багатоплідні. Значної шкоди галузі завдають хвороби кролів: інвазійні, інфекційні, паразитарні, спадкові. Завдяки швидким темпам розмноження моніторинг генетичного вантажу тварин є важливим аспектом вивчення популяцій. До найбільш поширених спадкових хвороб кролів належать в переважній більшості з аутосомно-рецесивним типом успадкування і неповною пенетрантністю.

Зубні хвороби, такі як малоклузія - аномалія прикусу: ретрогнатизм (лат. - retrognathia) – поява додаткових рядів зубів; прогнатизм (лат. - prognathos) - виступ щелепи вперед, нижня щелепа позбавлена виступу підборіддя і створює гострий лицьовий кут у тварин, виникає внаслідок аутосомної рецесивної дії гену з неповною пенетрантністю. Дана спадково обумовлена патологія несумісна з дорослим життям, тварини гинуть від голоду на третьому тижні життя.

Буфтальмія – вроджена глаукома, викликана аутосомно-рецесивною мутацією з неповною пенетрантністю. Буфтальмія обумовлена розширенням очного яблука завдяки збільшеному внутрішньоочному тиску в результаті відсутності або недорозвиненості каналів. Хвороба може мати прояв у 3 тижні після народження, але зазвичай її виявляють у віці від 3 до 4 місяців.

У тварини зі скошеними ногами переважно пошкоджена одна або декілька кінцівок. Кролі не в змозі рухати пошкодженими частинами тіла. Цей стан стає помітним, коли молодняк залишає родинне гніздо і стає здатним використовувати кінцівки. Лікування цього розладу поки що невідоме. Тварини гинуть через нездатність прогодувати себе. Найбільш імовірним є аутосомно-рецесивний тип захворювання.

Гідроцефалія (водянка головного мозку, лат. – Hydrocephalus) – моногенне аутосомно-рецесивне захворювання, що супроводжується збільшенням внутрішньочерепного тиску,

може спричиняти блювання, нудоту, сонливість, запаморочення голови, конвульсії. Гідроцефалія може бути викликана спадковим дефектом в дренажі черепно-мозкової рідини від мозкового стовпа або внаслідок надлишку або нестачі вітаміну А

Щоб запобігти прояву генетичного вантажу популяцій в кролівництві традиційно не використовують інбридинг – близькоспоріднене схрещування. На нашу думку, періодично потрібно проводити близькоспоріднені схрещування племінного молодняку з метою виявлення носійства аутосомно-рецесивних захворювань кролів.

**Кучеренко А.^{1,2}, Татарський П.^{1,2}, Соловійов О.¹, Кравченко С.¹,
Грищенко Н.¹, Шульженко Д.³, Кузнецова С.³, Лівшиць Л.¹**

**АНАЛІЗ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ СИСТЕМИ КОАГУЛЯЦІЇ КРОВІ
У ПАЦІЄНТІВ З КЛІНІЧНИМ ДІАГНОЗОМ ІНСУЛЬТУ**

¹ Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
вул.Заболотного 150, м. Київ, 03680, Україна

² Київський Національний Університет ім. Тараса Шевченка

³ Інститут геронтології АМН України
E-mail: livshits@imb.org.ua

Інсульт - це гетерогенна мультифакторіальна патологія вогнищевого ураження головного мозку, пов'язана з гострим порушенням його кровопостачання. Розрізняють два типи інсульту: ішемічний та геморагічний. Ішемічний інсульт зустрічається приблизно в 4 рази частіше. Причинами ішемічного інсульту можуть бути атеросклерозне пошкодження стінок артерії та тромбоз. Геморагічний інсульт розвивається при розриві артерій, причиною якого може бути підвищення артеріального тиску. Вже відомо цілий ряд генетичних факторів, що впливають на стан системи гемостазу та обумовлюють схильність до розвитку тромбозів. До таких належать і поліморфізми в генах коагуляції крові (гени факторів FII (протромбін) та FV).

Мутація Лейден (1691G>A) гена FV асоційована з гіперкоагуляцією та підвищеною схильністю до венозних тромбозів. В гетерозиготному стані ця мутація призводить до 3-7 кратного збільшення ризику тромбоутворення, в гомозиготному стані цей ризик зростає в 80-100 разів. Мутація в гені протромбіну 20210G>A асоційована з підвищеною концентрацією протромбіну в плазмі та зростанням ризику артеріальних та венозних тромбозів в 2-5 разів. Наявність у індивіда одразу двох мутацій (FV Лейден та FII 20210G>A) підвищує ризик тромбозу в декілька разів порівняно з носіями лише однієї з мутацій.

Для з'ясування ролі поліморфних варіантів генів FII та FV системи коагуляції крові, як факторів спадкової схильності до розвитку інсульту був проведений аналіз в групі пацієнтів з клінічним діагнозом інсульт (n=132) та у контрольній групі осіб похилого віку, у яких в анамнезі не було випадків інсульту (n=31). В обох групах проведено аналіз клініко-неврологічних та генеалогічних даних. Досліджувана група була розподілена на підгрупи згідно з характером порушення мозкового кровообігу: ішемічний інсульт (n=115) та геморагічний (n=17).

Аналіз було проведено за допомогою мультиплексної ПЛР з наступним ПДРФ-аналізом. Мутантний варіант гена FII 20210G>A в гетерозиготному стані зустрічався в групі з ішемічним інсультом у 4 індивідів (3,5%), але не був виявлений в двох інших групах. Мутантний алель гена FV Лейден в гетерозиготному стані було виявлено у 3 індивідів з ішемічним інсультом (2,6%) та у 1 індивіда з контрольної групи (3,2%). Однак цю мутацію не було виявлено у групі з геморагічним інсультом.

Статистично достовірної різниці між розподілом мутантних варіантів за генами в досліджених групах не виявлено. Це можна пояснити недостатнім розміром вибірок контрольної групи та групи з геморагічним інсультом. Проте, спостерігається тенденція до підвищення частоти досліджуваних мутацій у групі пацієнтів з ішемічним інсультом.

Отримані дані можна вважати попереднім результатом, який свідчить про необхідність продовження дослідження, збільшення вибірок, створення додаткових контрольних груп та розширення спектру досліджуваних генів-кандидатів залучених в патогенез інсульту.

Дослідження проводиться в рамках конкурсу спільних наукових проектів НАН України – Російського фонду фундаментальних досліджень та постанови Президії НАН України від 02.04.08 № 104.

Кучма М.¹, Парнікоза І.², Поронник О.²

ОСОБЛИВОСТІ КАЛЮСНОЇ КУЛЬТУРИ ТКАНИН *ESCHIMUM PLANTAGINEUM* L. – ПРОДУЦЕНТА ШИКОНІНУ

¹ Національний технічний університет України "Київський політехнічний інститут"
пр-т Перемоги, 37, м. Київ, 03056, Україна

² Інститут молекулярної біології і генетики НАН України,
вул. Академіка Заболотного 150, м. Київ, 03143, Україна
E-mail: k.maria@ua.fm, oksana_poronnik@ukr.net

Природний нафтохіноновий пігмент шиконін здавна відомий як найцінніший червоний барвник, що також характеризується широким спектром терапевтичної дії. Джерелом шиконіну є рослини родини *Boraginaceae*, дикорослі види яких вже не мають достатньої сировинної бази. Вартість шиконіну, отриманого біотехнологічним шляхом, на світовому ринку досить висока, в зв'язку з чим постає потреба в одержанні шиконіну в умовах вітчизняного виробництва. Новим перспективним джерелом отримання цього пігменту є культура тканин *Echium plantagineum* L.

Культуру тканин *E. plantagineum* отримано у відділі генетики клітинних популяцій Інституту молекулярної біології і генетики НАН України у 2005 році. Калюсну тканину одержано з корінців насіннєвих проростків та адаптовано до розробленого для продуцентів шиконіну середовища LS-м.

За вмістом шиконіну і інтенсивністю росту відселектовано найбільш перспективний варіант калюсу 3Ер. Він представляє собою сукупність клітинних агрегатів середньої щільності, які легко відокремлюються один від одного. Розмір клітинних агрегатів 0,1-0,4 см в діаметрі. Забарвлення калюсної культури переважно яскраво-червоне.

Звичайна тривалість пасажу становить 14 діб. Приріст біомаси на 14-ту добу росту складає в середньому 16,8 г сухої тканини на 1 л живильного середовища. Ростовий індекс коливається в межах 3.

На кінець звичайного пасажу варіант 3Ер накопичує 8,6% шиконіну в перерахунку на суху масу. Максимум накопичення шиконіну спостерігали при подовженому пасажі на 20-ту добу росту – 11,6%. Загальна продуктивність шиконіну на 14 добу росту становить 1,4 г на 1 л живильного середовища і 2,5 г/л при подовженому пасажі на 20-ту добу росту.

Від моменту одержання в 2005 році під час пересадки (на 14 добу звичайного пасажу) відбирався матеріал для цитологічного вивчення. Становлення культури супроводжувалося проявами диференціації: виникненням осередків утворення довгих трахеїд, волокнистих структур тощо. Також спостерігали морфологічні прояви дедиференціації, зокрема явища екструзії ядерного матеріалу, перехід майже половини складу клітинної популяції в невеликі меристемоподібні клітини кубічної форми.

Впродовж 2005-2008рр. даний варіант культивування характеризувався широким діапазоном значень площі клітин від 200 до понад 3200 мкм² та площі ядра від 10 до понад 160 мкм². При цьому, в ході становлення, калюсу було властиве коливання домінування клітин середнього (400-999 мкм²) та великого розмірів (понад 3200 мкм²). Домінуючий клас за площею ядер був представлений клітинами з площами ядер 20-69,9 мкм² або понад 160 мкм². Це

свідчить про те, що досягнувши високого рівня диференціації, культура 3Ер зберігає при цьому високий ростовий потенціал.

Ще одним показником високого рівня диференціації є відсоток накопичення трахеїдних елементів. В ході становлення даного варіанту культури він також зазнавав коливань, проте починаючи з 2008 року залишався стабільно високим на рівні 3,6-12,7%. Специфічною рисою даної культури є трахеїдні елементи з бічними перфораціями.

Проліферація клітин вказаної культури здійснюється мітотичним та амітотичним шляхами. Характеристика рівнів проліферативної активності потребує спеціальних добових досліджень.

Майорова О.

ОСОБЛИВОСТІ КУЛЬТИВУВАННЯ *IN VITRO* ТИРЛИЧУ БЕЗСТЕБЛОВОГО (*GENTIANA ACAULIS* L.)

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка

вул. М. Кривоноса, 2, м. Тернопіль, 46027, Україна

E-mail: majorova2001@mail.ru

До рідкісних видів Українських Карпат відносять тирлич безстебловий (*Gentiana acaulis* L.) – цінну лікарську і декоративну рослину. Природні запаси цього виду на Україні близькі до вичерпання, його занесено до Червоної книги України (1996). Відомо, що одним із шляхів збереження рідкісних видів є культивування їх *in situ*. Поряд з цим, для отримання лікарської рослинної сировини рідкісних видів ефективним є використання біотехнологічних методів.

Метою даного дослідження є з'ясування особливостей культивування *in vitro* *G. acaulis*.

У роботі використовували насіння *G. acaulis* з реберської (г. Ребра, 2001 м н.р.м., хребет Чорногора Надвірнянського району Івано-Франківської області) та туркульської популяцій (г. Туркул, 1750 м н.р.м., хребет Чорногора Надвірнянського району Івано-Франківської області); а також асептичні рослини *G. acaulis*, отримані шляхом пророщування насіння рослин природних популяцій *in vitro*.

Виявлено, що строки висаджування та використання різних концентрацій гіберелової кислоти (ГК₃) впливали на схожість стратифікованого насіння *G. acaulis* (туркульська популяція). Так передпосівна обробка насіння даного виду, витриманого протягом 2 місяців при температурі 2-5°C, ГК₃ у концентрації 100 мг/л практично не впливала на його схожість. Збільшення концентрації ГК₃ до 1000 мг/л підвищувало схожість до 60%. Період максимальної схожості насіння туркульської популяції *G. acaulis* (75%) при використанні холодної стратифікації та обробки 1000 мг/л ГК₃ припадав на 4 місяць після збору. При дослідженні впливу на схожість насіння *G. acaulis* (реберська популяція) різних типів стратифікації з'ясовано, що найкраще (47,2%) проростає свіжозібране насіння, витримане протягом 27 діб при високих позитивних температурах 20-25°C і оброблене ГК₃ у концентрації 600 мг/л протягом однієї доби.

З'ясовано, що оптимальним для росту *in vitro* рослин туркульської популяції *G. acaulis* є середовище МС/2 із збільшеною вдвічі концентрацією СаCl₂ (МС/2_{мод}) та рН 5,7; для реберської популяції – МС/2 без змін концентрації солі кальцію та рН 5,5.

Мікроклональне розмноження *G. acaulis* ми проводили шляхом прямого морфогенезу, використовуючи для цього ділянки пагона з пазушними бруньками, оскільки відомо, що регенеровані таким способом рослини є здебільшого генетично однорідними, ідентичними батьківській формі (Кушнір, Сарнацька, 2005; Кунах, 2005). Встановлено, що відсоток живців, на яких формувалися пагони, та кількість пагонів у розрахунку на один живець для рослин цього виду з реберської та туркульської популяцій були досить низькими. Найбільш сприятливим для мікроклонування серед протестованих було агаризоване середовище МС/2, доповнене 0,2 мг/л БАП та 0,2 мг/л Кін – у випадку рослин з реберської популяції та середовище МС/2_{мод}, доповнене 0,5 мг/л БАП та 0,1 мг/л Кін – для рослин туркульської популяції. За тих умов кількість експлантів рослин туркульської популяції, здатних формувати пагони

(мікроклони), складала 83,3%, а кількість пагонів у розрахунку на один висаджений живець – 2,63. На середовищі такого ж складу, але без збільшення концентрації CaCl_2 ці показники були наступними – 45,8% та 0,83 пагонів на один висаджений живець

Для індукції калусоутворення з рослин туркульської та реберської популяцій *G. acaulis* оптимальним є використання кореневих експлантів, вилучених з середньої ділянки коренів. Найбільшу підтримуючу здатність для утворення калусу *G. acaulis* мало живильне середовище МС/2, доповнене 0,1 мг/л БАП і 1,0 мг/л 2,4–Д (туркульська популяція) та 0,1 мг/л БАП і 0,5 мг/л 2,4–Д (реберська популяція). Для проліферації калусів кореневого походження *G. acaulis* від рослин з обох популяцій було середовище МС/2, доповнене 0,2 мг/л БАП і 0,5 мг/л 2,4 Д.

Отже, нами з'ясовано особливості культивування *in vitro* *G. acaulis* з різних місць зростання в Українських Карпатах.

Макітринський Р., Осташ Б., Федоренко В.

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ПЛЕЙОТРОПНОГО РЕГУЛЯТОРНОГО ГЕНА *REL A* НА РІВЕНЬ СИНТЕЗУ МОЕНОМІЦИНІВ ШТАМАМИ АКТИНОМІЦЕТІВ

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського 4, м. Львів, 79005, Україна

E-mail: mr_roman@ukr.net

Проблема пошуку нових антибіотичних речовин є однією з найбільш актуальних у сучасній біотехнології. Перспективними в цьому плані є представники родини фосфогліколіпідних антибіотиків, зокрема ті, що належать до групи моеноміцинів. Моеноміцин А діє на зовнішньоклітинні пептидогліканглікозилтрансферази, що задіяні у формуванні клітинної стінки в бактерій. Моеноміцин А – основний продукт вторинного метаболізму штаму *Streptomyces ghanaensis* ATCC14672. Він складається з хромофору А, залишків цукрів та фосфоліпідного ланцюга. Антибіотик активний проти багатьох грампозитивних мікроорганізмів, включаючи навіть ванкомицин-резистентні штами бактерій. Перешкодою у вивченні моеноміцинів є низький рівень їхньої продукції штамом дикого типу. Це стимулює до використання підходів комбінаторного біосинтезу з метою створення штамів із збільшеним рівнем синтезу антибіотика. Однак такі експерименти неможливі без розуміння регуляторних процесів, що контролюють продукцію моеноміцинів у *S. ghanaensis* ATCC14672.

Використання деяких штамів актиноміцетів, зокрема *S. albus*, *S. coelicolor*, *S. lividans*, як гетерологічних господарів для експресії чужорідних генів надає низку переваг у вивченні багатьох регуляторних процесів у біосинтезі моеноміцинів. Також є можливим створення штамів із збільшеним рівнем синтезу антибіотика, надекспресуючи додаткові копії генів регуляторних білків. Нами проаналізовано низку позитивних та негативних плейотропних генів-регуляторів *S. coelicolor* та встановлено, що більшість з них має ортологів у геномі *S. ghanaensis*. Для перевірки ймовірності впливу глобальних регуляторів на рівень синтезу моеноміцину штамми актиноміцетів нами вибрано ген *relA* *S. coelicolor*. Продукт цього гена функціонує як гуанозинтетрафосфатсинтаза, що визначає рівень гуанозинтетрафосфату (ppGpp) в клітині. Рівень пулу ppGpp впливає на синтез багатьох метаболітів, зокрема антибіотиків.

Для конструювання штамів, що містять додаткові копії гена *relA*, нами використано такі актиноміцети як: *S. ghanaensis* ATCC14672 та *S. albus* R1 38-5⁺, який експресує гени біосинтезу безхромосомних похідних моеноміцину, що є у косміді moeno38-5⁺.

Ген *relA* є у плазміді pIJ6085, де перебуває під контролем тіострепто-індуцибельного промотора. З літературних джерел відомо, що цей промотор “протікає”, тобто функціонує без індукції тіострептоном. Також pIJ6085 містить у собі ген стійкості до апраміцину (*aacA*). Цю плазмиду перенесено у штами-продуценти моеноміцинів шляхом міжродової кон'югації з *E. coli* ET 12567 (pUB307). Штами актиноміцетів, що несуть плазмиду pIJ6085, відбирали за стійкістю до апраміцину. Наслідком цих маніпуляцій стало створення штамів *S. ghanaensis relA*⁺ та *S. albus* R1 38-5⁺ *relA*⁺. Для того, щоб перевірити як впливає надекспресія гена гуано-

зинтетрафосфатсинтетази на рівень синтезу моеноміцинів, проведено тест на антибіотичну активність (тест-культура *S. lutea*). Штами актиноміцетів вирощували у рідкому поживному середовищі R5A(m) протягом семи діб. Антибіотик екстрагували метанолом та наносили на диски. Зони пригнічення росту тест-культури визначали на 16 годину після початку інкубації. Встановлено, що надекспресія гена *relA* спричиняє зростання синтезу моеноміцинів штамом *S. ghanaensis relA⁺* у 2,5 раз, тоді як у *S. albus* R1 38-5⁺ *relA⁺* – 1,5. Як контроль використано екстракти з вихідних штамів, що містили вектор pIJ6902.

Отже, сконструйовано штами актиноміцетів з надекспресованим геном *relA*. Доведено, що це збільшує рівень синтезу моеноміцинів. Це свідчить про можливість використання плейотропних регуляторних елементів як спосіб створення штамів-надпродуцентів.

Малюк О., Ліновицька В.

ГЛИБИННЕ КУЛЬТИВУВАННЯ ВИЩОГО БАЗИДІАЛЬНОГО ГРИБА *SCHIZOPHYLLUM COMMUNE* ПРИ РІЗНИХ ЗНАЧЕННЯХ pH.

Національний технічний університет України “Київський політехнічний інститут”
пр-т Перемоги, 37, м.Київ, 03057, Україна
E-mail: vmail@bigmir.net

Одержання екологічно чистих, біологічно активних харчових продуктів, а також оздоровчих та лікувально-профілактичних препаратів є надзвичайно актуальною проблемою для України. Тому, дослідження вищих базидіальних грибів, що за сучасними даними мають імуностимулюючу, антиоксидантну, протипухлинну, антивірусну та адаптогенну дію заслуговує особливої уваги. До грибів, для яких характерні саме такі властивості, належить і дереворуйнуючий вищий базидіоміцет *Schizophyllum commune*.

Основними біологічно активними речовинами, що продукуються грибом *S.commune*, є білки, деякі низькомолекулярні сполуки та екзополісахариди, в першу чергу D-глюкани, які проявляють у тварин та людини низку лікувальних ефектів. Для отримання таких цінних сполук, як в лабораторних, так і в промислових умовах, застосовується глибинне культивування із використанням рідких поживних середовищ. При цьому, на вихід біомаси та цільових продуктів впливає не тільки хімічний склад середовища, а й його pH.

Тому, метою представленої роботи було дослідження впливу pH рідкого поживного середовища на накопичення біомаси та екзополісахаридів при глибинному культивуванні штамів базидіоміцету *S.commune*.

Об'єктами дослідження були 4 штами *Schizophyllum commune* Fr. (1761, 1765, 1766 та 1767). Культури зберігаються у Колекції шапинкових грибів Інституту ботаніки ім.М.Г.Холодного НАН України та в колекції мікроорганізмів кафедри промислової біотехнології факультету біотехнології та біотехніки НТУУ “КПІ”.

Дослідження накопичення біомаси та екзополісахаридів проводилися на синтетичному поживному середовищі з додаванням глюкози до концентрації 30 г/дм³, при різних вихідних значеннях pH (в межах від 5,3 до 9,2), для чого створювали різні співвідношення гідрофосфату та дігідрофосфату калію у середовищі. Культивування проводилось в колбах Ерленмєєра (100 та 250 мл) протягом 13 діб, при температурі +28°C, при постійному перемішуванні (170 об/хв). Після закінчення культивування визначали накопичення біомаси ваговим методом та вміст екзополісахаридів в культуральному фільтраті осадженням етанолом з наступним визначенням їх концентрації фенол-сірчаним методом.

В результаті дослідження було з'ясовано, що для отримання максимальної кількості екзополісахаридів для *Schizophyllum commune* необхідно створювати вихідне значення pH межах від 5,4 до 8, а для більшого виходу біомаси - в межах від 5,4 до 6,9.

Робота виконувалася в рамках гранту Фонду фундаментальних досліджень МОН України “Закономірності росту базидіальних грибів в глибинній культурі” № Ф 25/205-2008.

Мироновський М., Осташ Б., Федоренко В.**ОЦІНКА РІЗНОМАНІТНОСТІ ГЕНІВ НЕРИБОСОМНИХ ПЕПТИДСИНТЕТАЗ У ШТАМІ
STREPTOMYCES SIOYAENSIS NRRL-B5408**

Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Грушевського 4, м. Львів, 79005, Україна
E-mail: maxmur@rambler.ru

Об'єктом наших досліджень є *Streptomyces sioyaensis*, продуцент тіопептидного антибіотика сіоміцину. Сіоміцин володіє широким спектром біологічних активностей, серед яких -протипухлинні, протималарійні, імуносупресивні та антибактерійні.

Метою наших досліджень було оцінити різноманіття генів нерибосомних пептидсинтез у штамі *S. sioyaensis*, а також на їхньому прикладі перевірити ефективність розробленої нами системи спрямованого руйнування генів.

Нерибосомні пептидсинтетази належать до модульних ферментів, які здійснюють конвесерний синтез утворюваних сполук. Кожен модуль синтетази відповідає за приєднання одного амінокислотного залишку. У структурі модулів виділяють окремі домени. Обов'язковими доменами кожного модуля є наступні: домен аденілювання, що здійснює специфічний вибір амінокислоти та її активацію, пептидилтрансферазний домен, відповідальний за утримування активованої амінокислоти, та домен циклізації, що каталізує утворення пептидного зв'язку між активованими амінокислотами.

Для клонування генів нерибосомних пептидсинтез ми використали виведені праймери A3F та A7R, комплементарні до внутрішніх ділянок генів, що кодують домени аденілювання. На основі ампліфікованих продуктів отримано 41 незалежну плазмиду pBI701 - pBI741. Плазмиди картували фізично, після чого частину з них секвенували. Аналіз отриманих послідовностей виявив дев'ять різних фрагментів, клонованих у плазмідах pBI735, pBI738, pBI722, pBI708, pBI736, pBI720, pBI734, pBI712, pBL723. Використавши послідовності продуктів трансляції, ми передбачили субстратну специфічність клонованих фрагментів плазмід pBI735, pBI712, pBI723 до треоніну, валіну та треоніну відповідно. Не вдалось остаточно визначити специфічність клонованих фрагментів плазмід pBI736, pBI738, pBI722, pBI734, pBI708, pBI720. Це свідчить про недосконалість таблиці нерибосомного коду, запропонованої Т. Stachelhaus, яка дає змогу перебачити субстратну специфічність досліджуваних доменів аденілювання пептидсинтез, а також на можливість її доповнення шляхом аналізу даних фрагментів.

Для руйнування генів нерибосомних пептидсинтез фрагменти дев'яти вищезгаданих плазмід субклонувано у човниковий вектор pKC1139, що містить термочутливий реплікон pSG5. Отримано плазмиди pKC1139735, pKC1139738, pKC1139708, pKC1139722, pKC1139736, pKC1139720, pKC1139734, pKC1139712, pKC1139723, перші шість з яких використано для руйнування відповідних генів. Отримані мутанти *S. sioyaensis* 735, 738, 708, 722, 720 не відрізнялись за антибіотичною активністю та морфологією від вихідного штаму. У випадку мутанта *S. sioyaensis* 736 відбувалось зниження антибіотичної активності у порівнянні з вихідним штамом. Це потребує подальшого дослідження, оскільки відомо, що нерибосомні пептидсинтетази не задіяні у біосинтезі сіоміцину, який, згідно літературних даних, є єдиним антибіотиком, що продукується досліджуваним штамом. Факт руйнування генів підтверджено результатами ДНК-гібридизації за Саузерном. Отже нами розроблено ефективну систему інсерційної інактивації генів у штамі *S. sioyaensis*, а також показано, що гени нерибосомних пептидсинтез широко представлені у його геномі.

Мосула М., Будзан І.**ВИКОРИСТАННЯ ПІДТРИМУЮЧИХ СУБСТРАТІВ ДЛЯ ОТРИМАННЯ КУЛЬТУРИ
ТКАНИН ДЕЯКИХ ВИДІВ РОДУ *GENTIANA* L.**

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
вул. М. Кривоноса, 2, м. Тернопіль, 46027, Україна
E-mail: yaryna-1@bigmir.net

Ізольовані клітини і тканини вищих рослин найчастіше культивують на поверхні сахарозо-мінеральних агаризованих середовищ, а також у рідких середовищах. При культивуванні у

рідкому поживному середовищі скорочується цикл вирощування завдяки полегшеному доступу поживних речовин до клітин; окрім того, вдається запобігти впливу компонентів, що містяться у агар-агарі, на ріст популяції клітин і з'являється можливість використання продуктів клітинного метаболізму, що виділяються у середовище. Цікавими є способи вирощування культур із використанням рідкого поживного середовища і підтримуючих субстратів-підкладок, на поверхні яких вирощується клітинна маса (Мясоедов, 1986). Як підкладки часто використовують пенополіуретан, або поролон, який добре переносить автоклавування, не володіє токсичною дією і може використовуватись повторно.

Метою даної роботи була розробка біотехнологічних прийомів культивування *in vitro* цінних лікарських видів *G. asclepiadea* та *G. punctata* та з'ясування можливості використання тривалого культивування отриманих калюсних культур на поролоні у рідкому живильному середовищі.

Для порівняння нами використовувалися калюсні тканини кореневого походження, отримані раніше від рослин *G. asclepiadea* (г. Пожижевська, 1420 м н.р.м., хребет Чорногора, Надвірнянський район, Івано-Франківська область) та *G. punctata* (г. Брескул, 1780 м н.р.м., хребет Чорногора, Надвірнянський район, Івано-Франківська область) (Страшнюк та ін., 2004). Культуру тканин тирличів вирощували на агаризованих та у рідких на поролонових підкладках поживного середовища МС (Murashige, Skoog, 1962) з половинним вмістом макро- та мікро солей (МС/2), доповнених 0,1 мг/л 6-бензиламінопурину та 0,5 мг/л 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти, за розробленою раніше методикою (Страшнюк та ін., 2007).

Дослідження особливостей росту калюсу кореневого походження *G. punctata*, отриманого від рослин з брескульської популяції, на різних підтримуючих субстратах показало, що при використанні поролонових підкладок як підтримуючого субстрату, індекс росту (ІР) за сирою масою калюсу *G. punctata*, починаючи з 90-ї і закінчуючи 210-ю добою культивування, був вищим, порівняно з таким на агаризованому середовищі. На 210-ту добу культивування цей показник у рідкому поживному середовищі на поролонових підкладках складав 4,5 і на 70,1% перевищував ІР калюсу на агаризованому середовищі.

Аналогічні результати отримані при дослідженні приросту сирової маси калюсу кореневого походження *G. asclepiadea*, отриманого від рослин з пожижевської популяції. Через 210 діб його вирощування у рідкому живильному середовищі з поролоновими підкладками ІР за сирою масою складав 3,99 і на 51,7% перевищував такий на аналогічному за складом агаризованому поживному середовищі.

Отже, нами підбрано умови для вирощування калюсних тканин *G. asclepiadea* та *G. punctata* у рідкому поживному середовищі МС/2 із застосуванням як підтримуючих субстратів поролонових підкладок. Встановлено залежність адаптації досліджуваних калюсів до культивування в рідкому поживному середовищі з поролоновими підкладками від видових особливостей. Стимулюючий ефект вирощування у рідкому поживному середовищі на поролонових підкладках для калюсу *G. punctata* і *G. asclepiadea* становив – 170,1% та 151,7% відповідно.

Перспективність використання даного способу для вирощування культури тканин тирличів визначається зменшенням трудомісткості процедури вирощування та матеріальних затрат завдяки використанню відносно дешевого підтримуючого субстрату – поролону.

Муращенко Л., Климишин Д., Федоренко В.

**КЛОНУВАННЯ ГЕНА *snogY* З КЛАСТЕРУ ГЕНІВ БІОСИНТЕЗУ НОГАЛАМІЩИНУ
STREPTOMYCES NOGALATER ТА ЙОГО ЕКСПРЕСІЯ У ГЕТЕРОЛОГІЧНИХ УМОВАХ**

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського 4, м. Львів, 79005, Україна

E-mail: dedima@rambler.ru

На сьогоднішній день актиноміцети знайшли своє застосування як важливий об'єкт біотехнології. Понад 60% біологічно активних сполук мікробного походження та дві третини антибіотиків є метаболітами актиноміцетів, а 80% з них синтезують представники роду *Strept-*

tomyces. Серед цих сполук основну увагу дослідників привертають представники групи антрациклінових антибіотиків, насамперед через їхню високу протипухлинну активність.

S. nogalater IMET43360 є продуцентом антрациклінового протипухлинного антибіотика ногаламіцину. Цей штам має важливе промислове значення, оскільки похідні ногаламіцину виявляють високу активність по відношенню до ракових клітин і низьку токсичність для організму людини у порівнянні з іншими антибіотиками. Метою цієї роботи є клонування та гетерологічна експресія гена *snogY* в клітинах різних продуцентів антрациклінових антибіотиків. Продукт даного гена виявляє високий рівень гомології до відомих О-метилтрансфераз стрептоміцетів, однак остаточно функції цього гена ще не з'ясовані. Як господарі для гетерологічної експресії обрано штами *S. echinatus* DSM40730 та *S. peucetius peucetius subsp. caesi*, що є продуцентами аранціаміцину та доксорубіцину відповідно. Подібність у будові молекул цих антибіотиків та ногаламіцину, а також шляхів їх біосинтезу дає змогу припустити можливість експресії *snogY* у клітинах цих штамів. Очікується, що в результаті такої експресії буде можливо отримати модифіковані антибіотики, а визначення положення приєднання метильної групи допоможе визначити характер метилювання цукрів ногаламіцину.

Для досягнення цієї мети ген *snogY* ампліфіковано методом полімеразної ланцюгової реакції, використавши Pfu-полімеразу та клоновано у векторі pBluescriptKS+. Отриману плазмиду pBluescriptsnogY обробили ендонуклеазою рестрикції EcoRI та елюювали фрагмент розміром 1,4 т.п.н. Цей фрагмент клонували у вектор pKC1218E, що дає змогу перенести клонований ген шляхом кон'югації. Експресія клонованих в складі цього вектора генів відбувається з конститутивного промотора гена резистентності до еритроміцину ErmEr. Отриману плазмиду pKC1218EsnogY, розміром 7,4 т.п.н. перенесено у клітини *S. echinatus* DSM40730 та *S. peucetius subsp. caesi* шляхом кон'югації з *E. coli* ET12567 (pUB307). Частота одержання екскон'юганів у таких схрещуваннях в середньому становила $5,0 \cdot 10^{-5}$.

Методом тонкошарової хроматографії проведено аналіз метаболітів штамів *S. echinatus* pKC1218EsnogY+ та *S. peucetius* pKC1218EsnogY+. Крім сполук, що синтезуються штамми дикого типу, в отриманих екстрактах нових сполук виявлено не було. У результаті порівняння індексів продуктивності отриманих в роботі штамів із вихідними було встановлено, що рекомбінантні штами не відрізняються від дикого типу за антибіотичною активністю.

Назаренко М.

МІКРО- ТА МАКРОМУТАЦІЇ В ГЕНЕТИЧНОМУ ПОЛІПШЕННІ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ

Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України

вул. Васильківська 31/17, м. Київ, 03022, Україна

E-mail: nik_nazarenko@ukr.net

Однією з актуальних задач в експериментальному мутагенезі пшениці є розробка методів та пошук нових методичних засобів, що підвищують вихід практично-цінних мутацій. Дослідження ролі макро- та мікромутаций в зв'язку з вдосконаленням методів мутаційної селекції та розробкою ефективних прийомів генетичного поліпшення рослин, дослідження специфічності дії мутагенів при індукції макро- та мікромутантів на різних генотипах можуть сприяти прогресу у вирішенні питання спрямованого керування мутаційним процесом. Нагальною є проблема визначення пріоритетів використання мікро- та макромутаций в практичній селекції, визначення оптимальних для індукції макро- та мікромутаций доз мутагенів.

Досліди проводились у Дослідному сільськогосподарському виробництві Інституту фізіології рослин і генетики НАН України (сmt Глеваха Васильківського району Київської області), зона Полісся, протягом 2005 – 2008 рр.

Вихідним матеріалом в нашій роботі було насіння мутантних сортів та ліній озимої м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.) сортів "Смуглянка", "Панна". Використані такі дози та концентрації мутагенів: гама-промені – 50, 100, 150, 200 Гр., НЕС – 0,005, 0,01, 0,025, 0,05%, НМС – 0,001, 0,005, 0,0125, 0,025%.

В M_1 , M_2 , M_3 вивчали частоту та спектри мутацій в залежності від концентрацій і доз мутагенів – всього 26 варіанти досліду. Загальна кількість вивчених сімей 12580. Мутації виділяли шляхом огляду рослин всіх сімей під час проходження ними основних фаз росту і розвитку у поколіннях M_1 , M_2 та M_3 .

Для сорту “Панна” характерні як макро- так і мікрозміни, але переважають макромутації. Мутації “Смуглянки”, як правило, не мають такого різкого характеру, переважають мікрозміни. Для Смуглянки відносно більш характерні мікрозміни за продуктивністю та кушистістю.

Встановлено суттєву залежність виходу корисних мікро- та макромутацій від генотипу вихідної форми, тому підбір належних генотипів є обов’язковою умовою успіху мутаційної селекції.

Залежно від цілей селекції виникає потреба в індукуванні конкретного типу мутацій. За частотою видимих мутацій нами установлені оптимальні дози мутагенних факторів для індукції мікро- чи макромутацій. Для індукції мікромутацій варто використовувати низькі дози мутагенів. З метою індукції макромутацій необхідно використовувати високі та помірно високі дози мутагенів. Використання високих доз мутагенних факторів (LD_{50}) є ефективним засобом індукування макромутантів як джерела нових цінних для комбінативної селекції ознак. Мікромутації краще використовувати при прямому доборі мутантних форм в якості майбутніх сортів. Макромутанти, як правило, є цінним матеріалом для комбінативної селекції.

Виділені практично-цінні за комплексом господарсько-цінних ознак мутантні лінії озимої пшениці будуть використовувати в подальшій селекційній роботі.

Таким чином отримані нами дані стосовно частоти та спектру індукованих макро- та мікромутацій, залежності їх виходу від мутагенного фактору і його дози, а також генотипу сорту, будуть сприяти підвищенню ефективності мутаційної селекції озимої пшениці.

Новак Н., Облап Р., Мельничук М.

**ВИВЧЕННЯ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНУ *STAT5A* ТА ЙОГО ЗВ'ЯЗКУ
З ПОКАЗНИКАМИ МОЛОЧНОЇ ПРОДУКТИВНОСТІ
УКРАЇНСЬКОЇ ЧОРНО-РЯБОЇ ХУДОБИ.**

Національний університет біоресурсів і природокористування України

вул. Героїв Оборони 15, м. Київ, 03041, Україна

E-mail: n.b.novak@mail.ru

Білки родини STAT (signal transducers and activators of transcription) було описано на початку 90-х років минулого століття як цитоплазматичні фактори транскрипції, які здійснюють передачу сигналів від рецепторів цитокінів до клітинного ядра і регулюють транскрипцію багатьох генів. На сьогоднішній день у ссавців описано сім факторів транскрипції STAT, одним із яких є STAT5. Фактор STAT5 представлено ізоформами А і В, які кодуються двома різними генами. Бичачий ген *STAT5A* локалізовано на 19 хромосомі, він має розмір 15947 п.н. і складається із 19 екзонів. Фактор транскрипції *STAT5A* відіграє важливу роль в процесах лактації молочної залози, оскільки є посередником в активації експресії генів білків молока пролактином, а також цільових генів гормонного росту. Ці два гормони є основними регуляторами лактації і швидкості росту тварин. В зв'язку з цим *STAT5A* розглядають як ген-кандидат в маркери кількісних ознак продуктивності сільськогосподарських тварин.

В теперішній час дослідження з виявлення впливу поліморфізму в гені фактору транскрипції *STAT5A* на продуктивні ознаки тварин ведуться в напрямках м'ясної та молочної продуктивності. Так, дослідження нуклеотидної заміни С→Т в 6853-му положенні VII екзону показало значний зв'язок з ознаками м'ясної продуктивності корів. Тварини з генотипом СС характеризувались більшим приростом живої маси і меншою потребою у кормах, ніж тварини з генотипом СТ (Flisikowski K. et al, 2003). Інші автори досліджуючи поголів'я джерсейської породи, встановили взаємозв'язок А/Г поліморфізму з виходом молока і вмістом жиру і білків в ньому (Brym P. et al, 2004). Тварини з генотипом GG мали більший вихід

молока, в той час як корови з генотипами АА і АГ характеризувались більшим процентом вмісту жиру і білку.

Метою даного дослідження було вивчення Т/С поліморфізму, локалізованого в 12743-му положенні XVI екзону гену STAT5A (Flisikowski K. et al, 2004) і встановлення його взаємозв'язку з ознаками молочної продуктивності у тварин української чорно-рябої породи ВРХ, що відтворюється на Агростанції «Митниця» Київської області. Всього була досліджена 251 тварина. Аналіз генетичної структури тварин проводили методом ПЛР-ПДРФ, статистична обробка даних здійснювалась з використанням комп'ютерної програми «PopGen». В результаті досліджень виявлено 109 тварин з генотипом ТС та 142 з генотипом ТТ. Частоти алелей були розподілені наступним чином: С-0.217, Т-0.783. Розподілення частот генотипів показало статистично достовірне порушення генетичної рівноваги згідно закону Харді-Вайнберга (χ^2 -19,1, $P < 0,001$), що виявляється в нестачі гомозигот.

Було встановлено взаємозв'язок Т/С поліморфізму з ознаками молочної продуктивності дослідженої популяції. Так, тварини з генотипом ТС характеризувалися істотно більшим виходом молока, білку та жиру ($P < 0,001$), ніж тварини з генотипом ТТ. В той час як вміст (%) жиру в молоці був вищим у тварин с генотипом ТТ.

Результати досліджень було співставлено з літературними даними. Отримані дані мають як загальнобіологічне, так і прикладне значення. Вони можуть бути використані як показник генетичної характеристики породи та враховуватися при плануванні селекційної роботи в господарствах України.

Осадча Ю.

ЕМБРІОНАЛЬНА СМЕРТНІСТЬ ТА ОСОБЛИВОСТІ ЕМБРІОНАЛЬНИХ АНОМАЛІЙ У СТРАУСІВ ДВОХ ПІДВИДІВ

Національний університет біоресурсів та природокористування України

вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна

E-mail: reykris@yandex.ru

Інкубація яєць страусів має значно коротшу історію в порівнянні з основними видами сільськогосподарської птиці і, в зв'язку з наявністю структурно-морфологічних особливостей страусових яєць, потребує детального вивчення. Великий інтерес представляє виявлення ембріональних аномалій і причин (спадкових або технологічних), що їх викликають. Більш повне розуміння природи походження аномалій дозволить покращити відтворні здатності страусів. Діагностика ембріональної смертності дозволить виявити причини низької виводимості яєць, а також дає можливість контролювати стан батьківського стада страусів. Тому метою наших досліджень стало вивчення ембріональної смертності та особливостей ембріональних аномалій страусів двох підвидів (чорношиїх та блакитношиїх).

Дослідження проводили на племінній страусовій фермі АТЗТ «Агро-Союз» протягом травня-вересня 2008 року. Інкубацію яєць проводили в інкубаторах "VICTORIA" італійського виробництва. Всього було проінкубовано 5992 яйця (22 партії). Розтину піддавали відходи інкубації кількістю 204 яйця. Враховували причини відходів інкубації та у разі виявлення аномалій описували фенотипову картину загиблих зародків.

На основі проведених досліджень встановлено, що вивід страусенят та яєць знаходилися на високому рівні, але були нижче ніж у основних видів сільськогосподарської птиці. Вивід страусенят складав $50,93 \pm 2,079$ %, що на 27-41% нижче ніж у інших видів птиці. Виводимість страусових яєць була $71,09 \pm 1,730$ %, що на 9-21 % нижче ніж у інших видів птиці. Відсоток некондиційного молодняку у страусів був на 2-4 % вищий ніж у сільськогосподарської птиці і складає $4,93 \pm 0,381$ %.

Встановлена тенденція до високої загибелі ембріонів страусів на початкових етапах розвитку. До 14 доби інкубації рівень смертності складає $6,47 \pm 0,666$ %, однак починаючи з 21 доби знижується і до кінця ембріонального розвитку тримається на рівні 1,08-2,04 %, адже ця тенденція не є характерною для інших видів сільськогосподарської птиці.

Нами було визначено, що основною причиною ембріональної смертності страусенят на різних етапах інкубації були технологічні та аліментарні фактори. Технологічні чинники зумовили 77-81 %, а аліментарні - 13-39 % смертності ембріонів.

Проявами негативного впливу технологічних факторів були: не втягнутий жовтковий мішок та неправильне положення ембріона в яйці. Ці аномалії розвитку в більшості випадків спостерігалися одночасно. Результати фенотипування одержаних зразків аномальних зародків, які були спричинені аліментарними факторами свідчать, що найчастіше спостерігалися викривлення кінцівок та порушення в будові лицевої частини черепа.

Нами виявлено три види мутацій у страусів, які спостерігалися окремо одна від одної – «екзенцефалія», «відсутність очей» та «подвійний мутант». Частота прояву цих мутацій («генетичного вантажу») склала 2,9 %. У курей рівень «генетичного вантажу» становить 7,3 %, у перепелів 4,5 % (Ткачик Т.Е., 2005). Це підтверджує лінійну залежність характеристик ембріонального мутагенезу від часу одомашнення птиці.

Виявлена подібність спектру спадково обумовлених ембріональних аномалій розвитку страусів до інших видів сільськогосподарської птиці, що пояснюється законом Н.І. Вавилова про гомологічні ряди в спадковій мінливості.

Панасюк Є., Коновал О., Костенко С.

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНІВ СТІЙКОСТІ ДО КОЛІБАКТЕРІОЗІВ У СВИНІ СВІЙСЬКОЇ

Національний університет біоресурсів і природокористування України

вул.Генерала Родимцева, 19 Київ, 03041, Україна

E-mail: ghenshina4444@gala.net

Колібактеріози, тобто захворювання спровоковані *Esherichia coli*, завдають збитків у свинарстві, що проявляється у зниженні живої маси тварин, гибелі поросят в ранньому віці, витратах на медикаментозне лікування. Близько 15% поросят віком 4-12 тижнів хворіють на ентеричний колібактеріоз після відлучення від свиноматки, з них гинуть до 90% (Klukowska, Urbaniak, Switonski, 1999). Окрім традиційних методів запобігання ентеробіозам, які пов'язані з особливостями годівлі та утримання свиней (санітарна профілактика, антибіотики, імуномодельючі препарати, пізнє відлучення від свиноматки, спеціальне харчування для відлучених поросят) актуальним стає питання пошуку та використання генетичних маркерів, що дозволяють проводити селекцію на резистентність тварин до інфекційних захворювань. Виявлено, що існують генетично обумовлені резистентність та чутливість до *E. coli* у свиней.

Хвороба проявляється після того, як кишкова паличка патогенних типів колонізується у кишечнику поросят. Патогенні типи *E.coli*, які називають ETEC (enterotoxigenic *E.coli*) та STEC (Shiga-toxin *E. coli*) виділяють токсини що продукуються фімбріями, якими бактерії прикріплюються *in vitro* до клітин інтерстиціального епітелію (Berschinger et al, 1990; Khac et al, 2006). Ентеротоксигенність бактерії *E. coli* обумовлена наявністю фімбрії *F4* (Joller, 2006, Jorgensen, 2007). Серед *F4* фімбриєвих варіантів бактерій (*F4ab*, *F4ac* та *F4ad*) варіант *F4ac* найчастіше викликає захворювання (Joller, 2006). Чутливість тварин до адгезії ETEC *F4ac* обумовлена специфічним рецептором *F4acR* (інша назва *K88ab/ac*) на стінках тонкого кишечника і у свиней спадково передається по домінантному типу (Joller, 2006, Jorgensen, 2007).

На сьогодні у свиней відомо два локуси на різних хромосомах, які впливають на чутливість чи резистентність до адгезії патогенних типів *E.coli*. Ген *mucin 4* (*MUC4*), що кодує рецептор *F4acR* у свиней було картовано на хромосомі 13q41 (Jorgensen, 2007), а ген *alpha-fucosyltransferase 1* (*FUT1*) знаходиться на хромосомі 6 (Vogeli et al, 1996).

Мутація гену *FUT1* рецесивна і сприяє резистентності до палички, оскільки бактерія не може прикріпитися до відсутнього рецептору. Мутація в гені *MUC4* також рецесивна, але її результатом є чутливість тварин до бактерій, оскільки тварина не може здійснювати імунну відповідь через відсутність антигену.

Отже, поліморфізм генів *FUT1* (*alpha fucosyltransferase 1*) та *MUC4* (*mucin 4*) впливає на стійкість чи чутливість свиней до захворювань, спричинених кишковою паличкою. Мутація у

нуклеотидній послідовності гену *MUC4* проявляється як шкідлива, в той час, як мутація гену *FUT* проявляється як господарсько-корисна.

Шляхом генотипування встановлено, що серед популяції великої білої породи в Україні є 13-17% тварин із резистентним генотипом до колибактеріозів за геном *MUC4* та 7% тварин із резистентним генотипом за геном *FUT1*. Більшість свиней породи велика біла в Україні (від 80 до 91%), чутливі до інфекцій, спричинених *E. coli* (Коновал, Костенко, 2007).

Проведення генетичного моніторингу ремонтного молодняка і особливо кнурів за цими генами дозволило б скоротити втрати свинарства за рахунок відбору тварин, резистентних до колибактеріозу.

Пасічник Г., Шаль І.

ОТРИМАННЯ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ РОСТУ КУЛЬТУРИ ІЗОЛЬОВАНИХ КОРЕНІВ ДЕЯКИХ ВИДІВ РОДУ *GENTIANA* L.

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка

вул. М. Кривоноса, 2, м. Тернопіль, 46027, Україна

E-mail: pasichnyk1@yandex.ru

У фармацевтичній промисловості для виробництва ліків використовують кореневище та корені тирличів, приріст біомаси яких у природних умовах відбувається дуже повільно: для отримання кореневища масою 100-200 г необхідно вирощувати рослини до 10-12 років. Крім цього, заготівля коренів трудомістка та малоефективна: використовують рослини віком не менше, ніж чотири роки, під час викопування корені обриваються, значна частина їх залишається у ґрунті (Грицик, 2007).

Альтернативою природного розмноження є отримання біомаси в культурі *in vitro*. Встановлено, що й ізолювані корені тирличів здатні синтезувати біологічно активні речовини, характерні для коренів цілих рослин (Menkovic et al, 2000; Tivari et al, 2007). Тому морфогенні культури, у тому числі культура ізолюваних коренів, поряд з неморфогенними, є перспективними з точки зору біосинтезу вторинних метаболітів (Калинин и др., 1980).

Завданням нашої роботи було отримання та дослідження культури ізолюваних коренів тирличу ваточниковидного (*Gentiana asclepiadea* L.) з пожижевської (г. Пожижевська, хребет Чорногора, Надвірнянський р-н, Івано-Франківська обл., 1424 м н.р.м.) та великомиглівської г. Велика Мигла, Долинський р-н, Івано-Франківська обл., 950 м н.р.м.) популяцій, тирличу хрещатого (*Gentiana cruciata* L.) з креницької (с. Креничі, Обухівський р-н, Київська обл.) та медоборської (природний заповідник «Медобори», Гусятинський р-н, Тернопільська обл.) популяцій і тирличу звичайного (*Gentiana pneumonanthe* L.) з корюківської (Корюківське лісництво, Корюківський р-н, Чернігівська обл.) та вигодської (с. Вигода, Долинський р-н, Івано-Франківська обл.) популяцій без використання генетичної трансформації.

Для індукції утворення бічних корінців апікальні відрізки коренів (інокулами) довжиною 1–1,5 см рослин *G. cruciata* та *G. pneumonanthe* культивували у рідких живильних середовищах МС (Murashige, Skoog, 1962) з половинним вмістом макро- та мікро солей (МС/2), *G. asclepiadea* – у середовищі В₅ (Gamborg, Eveleigh, 1968). Обидва середовища доповнювали комбінаціями різних концентрацій 6-бензиламінопурину і 1-нафтилоцтової кислоти та кінетину і 1-нафтилоцтової кислоти. Для росту бічних корінців *G. pneumonanthe* та *G. cruciata* використовували живильне середовище МС/2 і для *G. asclepiadea* – середовище В₅ без фітогормонів. Середня кількість бічних корінців, утворених після першого етапу культивування, у розрахунку на інокулом для рослин тирличу звичайного складала 76-89, тирличу хрещатого – 79-83, тирличу ваточниковидного – 35-44. Середня довжина бічних корінців після першого етапу культивування тирличу звичайного становила – 4,3-4,8, тирличу хрещатого – 4,8-5,1, тирличу ваточниковидного – 3,4-3,8. Після другого етапу культивування середня довжина бічних корінців збільшувалася: для *G. pneumonanthe* – у 4,7-6,3 рази, *G. cruciata* – 5,2-5,5 рази та *G. asclepiadea* – у 4,9-5,4 рази.

Через 4-6 тижнів вирощування індекс росту за сирою масою культури ізольованих коренів, отриманої від рослин різних видів тирличів з різних популяцій, складав: для тирличу звичайного – 289,3-686,4, тирличу хрещатого – 505,3-654,2 та тирличу ваточниковидного – 216,4-250,2. Показники індексу росту нетрансгенних культур тирличів відповідали таким, отриманим іншими авторами при використанні трансформації *Agrobacterium rhizogenes*. Наприклад, індекси росту дев'яти клонів трансформованих коренів *G. lutea* лежали у межах 150,75-1473,23 (Menkovic et al., 2000).

Отже, шляхом двоетапного культивування *in vitro* без використання генетичної трансформації ми одержали культуру ізольованих коренів трьох видів тирличів із 6-ти популяцій. Такий спосіб двоетапного вирощування культури коренів тирличів дозволяє зменшити трудові та матеріальні затрати вирощування, а, отже, і собівартість біомаси, порівняно із трансгенними культурами ізольованих коренів.

Побережник О., Черник Я.

**СУПРЕСІЯ ГЕНАМИ *SLIT* ТА *ROBO* МУТАНТНОГО ДИСТРОФІНОВОГО ФЕНОТИПУ
У *DROSOPHILA MELANOGASTER***

Львівський національний університет імені Івана Франка, біологічний факультет

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

E-mail: olenkaviridis@yandex.ru

М'язова дистрофія Дюшена (МДД) – найбільш поширена міопатія, що призводить до порушення структури скелетних і серцевого м'язів. У людей, що хворіють на МДД, м'язова деградація починається у віці 3 – 5 років, швидко прогресує і до 30-річного віку призводить до летального наслідку. Причиною розвитку цього захворювання найчастіше є делеції у гені дистрофіну. Останній є складовою частиною дистрофін-глікопротеїнового комплексу (ДГК), який забезпечує зв'язок білків зовнішньоклітинного простору з компонентами цитоскелету. Відсутність чіткого розуміння функцій ДГК і його регуляції не дає змоги розробити ефективних методів лікування міопатій, які досі вважаються невиліковними. Висока гомологія усіх відомих компонентів ДГК дрозофіли і людини робить плодову мушку хорошою моделлю для вивчення міопатій із подальшою інтерпретацією результатів на хребетних.

В результаті схрещувань трансгенних мух, які несуть конструкти для синтезу антисенс-РНК до різних ізоформ дистрофінової мРНК, було отримано колекцію мутантних ліній з порушеним функціонуванням гена дистрофіну. Із них у роботі було використані: *tg6*, *tg4* та *NH2*. У лінії *tg6* нокаутовані всі ізоформи дистрофіну, а у ліній *tg4* та *NH2* – лише довгі форми білка. Характерною фенотиповою ознакою всіх мутантних ліній є порушена структура задніх поперечних вен крила. Метою даної роботи було виявити і дослідити гени-модифікатори функціонування дистрофінового гена, які б призводили до відновлення нормального фенотипу. З допомогою бази даних FlyBase виявлено, що такими генами є *slit* та *robo*. Оскільки продукти цих генів задіяні у формуванні та міграції нейронів, вони можуть призводити не лише до відновлення нормального, а й до посилення мутантного фенотипу. Для досягнення поставленої мети було проведено низку схрещувань мутантів *tg6*, *tg4* та *NH2* з трансгенними лініями, які несуть гени-модифікатори, вбудовані в Р-елемент. Аналізували потомків від даних схрещувань за фенотипом жилкування крил. Серед 688 особин з потрібним генотипом від схрещування лінії *robo* з *tg6* було виявлено 195 з нормальною структурою поперечних вен крила, а від схрещування *robo* з *tg4* супресія мутантного фенотипу виявлена у 140 із 454 потомків. Частота появи таких імаго становила $2,8 \times 10^{-1}$ та $3,1 \times 10^{-1}$ відповідно (пенетрантність гена 28 – 31%). Від схрещування лінії *slit* з лініями *tg6*, *tg4* та *NH2* було проаналізовано 763, 1082 і 745 потомків з потрібним генотипом, з яких 202, 233 та 132 особини характеризувалися нормальним жилкуванням вен крил. Частота появи таких особин була $2,6 \times 10^{-1}$, $2,1 \times 10^{-1}$ та $1,8 \times 10^{-1}$ відповідно (пенетрантність гена 18 – 26%). Підсилення мутантного фенотипу у потомків першого покоління не було виявлено у жодному схрещуванні.

Показано, що мутантні лінії *tg6* та *tg4* характеризуються скороченою як середньою, так і максимальною тривалістю життя. Середня тривалість життя (S_{50}) потомків першого покоління з потрібним генотипом від схрещувань лінії *slit* з лініями *tg6* та *tg4* була довшою більш як у 2 рази порівняно з дистрофіновими мутантами *tg6* та *tg4*, але водночас вкороченою відносно дикого типу. Аналогічно було показано, що мухи з генотипом *robo/tg6* жили довше на 55%, ніж мутанти *tg6*, але водночас менше порівняно з особинами дикого типу.

Отримані результати свідчать про певну супресорну дію генів *slit* та *robo* на функціонування гена дистрофіну у дрозофілі та їхню неповну пенетрантність. Більш сильним супресором мутантного фенотипу виявився ген *robo*.

Рішко В., Черник Я.

**ВПЛИВ ГЕНІВ *SEMA1A* ТА *SEMA2A* НА МУТАНТНИЙ ФЕНОТИП ЗА ГЕНОМ
ДИСТРОФІНУ У *DROSOPHILA MELANOGASTER***

Львівський національний університет імені Івана Франка, біологічний факультет

вул.Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна

E-mail: valchyk@gmail.com

З'ясування причин і механізмів виникнення м'язових дистрофій у людини є однією з найбільш актуальних проблем біології та медицини, оскільки такі захворювання належать до категорії невиліковних. В основі їхнього розвитку лежать порушення в структурі та функціонуванні дистрофін-глікопротеїнового комплексу (ДГК). ДГК виявлений у багатьох типах клітин. Основною його функцією є передача сигналів з позаклітинного простору всередину клітини (Shcherbata et al, 2007). Описано декілька видів міопатій. Серед них найважчою є м'язова дистрофія Дюшена, яка спричинює поступову деградацію м'язів. Причиною розвитку цього захворювання найчастіше є делеції в гені, який кодує дистрофін, що є складовою частиною ДГК.

Хорошим модельним об'єктом для дослідження молекулярно-генетичних основ виникнення міопатій є *Drosophila melanogaster*. Попередні дослідження виявили, що у дрозофілі наявні гомологи всіх компонентів, які входять до складу дистрофін-глікопротеїнового комплексу, при цьому вони проявляють високий ступінь подібності до відповідних структур людини (Greener, Roberts, 2000). В той же час було визначено 37 генів, які можуть виступати модифікаторами функціонування ДГК у дрозофілі (Kucherenko et al, 2008).

Метою роботи було дослідити вплив генів-модифікаторів *sema1a* та *sema2a* на функціонування гена дистрофіну у мутантній лінії $Dys^{NH2-RNAi}$ -actGal4. Ці гени задіяні в нейрональному регулюванні та інших важливих процесах, подібно як і ген дистрофіну, тому можуть позитивно впливати на фенотиповий прояв нестачі дистрофіну. Було проведено схрещування мутанта за геном дистрофіну $Dys^{NH2-RNAi}$ -actGal4 з P-інсерційними лініями, які несли гени *sema1a* та *sema2a*. Потомків даних схрещувань аналізували за фенотипом вен крила, оскільки цей фенотип є одним з проявів мутацій у гені дистрофіну.

Проаналізовано 303 особини з певним генотипом від схрещування ліній *sema1a* з $Dys^{NH2-RNAi}$ -actGal4 та виявлено 8 з нормальною структурою поперечних вен, тоді як у потомстві від схрещування *sema2a* з мутантом за геном дистрофіну у 2 особин зі 100 спостерігали відновлення вени. Частота появи особин з відновленим фенотипом за венами крил складала 3% та 2%, відповідно. Відомо, що іншими фенотиповими проявами мутацій у гені дистрофіну є скорочена тривалість життя та порушена рухова активність. Тому було проведено аналіз виживання та рухової активності особин, що містили ген-модифікатор та конструкт для інактивації гена дистрофіну. Максимальна тривалість життя у потомків від схрещувань ліній *sema1a* та $Dys^{NH2-RNAi}$ -actGal4 складала 13 діб і була на 5 діб більшою, ніж у потомків від схрещування *sema2a* та $Dys^{NH2-RNAi}$ -actGal4, проте не перевищувала цієї величини у вихідній лінії з мутацією у гені дистрофіну. Індекс рухової активності мух 10-12 денного віку у потомків схрещувань *sema1a* та $Dys^{NH2-RNAi}$ -actGal4 складав 0,43 і був вдвічі вищим, ніж у особин вихідної лінії.

Саулко Л., Шаргало М., Костенко С.

СПАДКОВО ОБУМОВЛЕНА СХИЛЬНІСТЬ ДО ХВОРОБ У ПОРОДИ ПЕКІНЕС

Національний університет біоресурсів і природокористування України

вул. Генерала Родимцева, 19, Київ, 03041, Україна

E-mail: saulko-lyudochka@rambler.ru

Пекінес – порода собак, створена спеціально для перебування в покоях палаців і замків. Тварини розважливі, але при цьому дуже грайливі до самої старості, незалежні й зарозумілі. Назвати їх тендітними й зніженими не можна, хоча пекінеси й люблять, щоб їх пестили. Незважаючи на малий ріст, відважні, можна сказати, безрозсудні пекінеси будуть битися й захищати себе й свого хазяїна навіть від величезних собак.

Собаки породи пекінес мають захворювання, зв'язані з їх спадковістю. Провівши аналіз клінічних досліджень, ми зробили висновок, що пекінеси схильні до наступних порушень, пов'язаних із здоров'ям: тяжкі пологи, випадіння і травмування очей, камені в сечовому міхурі, захворювання ротової порожнини, хвороби дихальних шляхів і опорно-рухового апарату, демодекоз.

Більшість цуценят породи пекінес народжуються шляхом кесарева розтину, оскільки у них дуже великі голови. Таким чином, селекція тварин має бути спрямована на зменшення голови. Також пекінеси схильні до випадіння очей. Це трапляється часто, навіть просто граючись зі своїм улюбленцем, можна спричинити випадіння і травмування ока.

Пекінеси більш схильні до утворення каменів в нирках, ніж інші собаки. Камені в сечовому міхурі зустрічаються досить часто як у псів, так і у сук. У псів невеликі камені можуть пройти в уретру і викликати непрохідність сечового проходу. Непрохідність можна запідозрити, якщо при потугах сеча не проходить або виділяється по краплях. Камені в сечовому міхурі можуть бути також причиною інфекції, яка вимагає цілеспрямованого лікування. Може бути необхідним хірургічне видалення каменів, а лікарське лікування або зміни в раціоні дозволять запобігти утворенню нових.

Захворювання ротової порожнини у пекінесів, як і інших дрібних тварин – достатньо часта причина звернення до ветеринарного лікаря. Сприятливим фактором є в першу чергу годівля дрібнодисперсними кормами (каші, сухарі, сир, деякі сухі корми), а також постійне давання «шматочків», вільний (не порціонний) режим приймання їжі – приводить до хронічного забруднення ротової порожнини кормовими частками. Цими часточками активно живляться бактерії, що призводить до зміни рівня рН в ротовій порожнині, в зв'язку з чим змінюється структура бактеріальної мікрофлори, відбувається утворення нальоту, що є продуктом життєдіяльності бактерій, а пізніше і зубного каменю, розвивається запалення ясен (гінгівіт) і слизової оболонки ротової порожнини (стоматит), пізніше інфекція може проникати і колонізувати більш глибокі тканини і кісткові структури.

Пекінеси мають висунуту вперед нижню щелепу, тому вони можуть страждати хворобами дихальних шляхів і опорно-рухового апарату. Часто ця порода має проблеми з постійними сльозотечами і носовими виділеннями.

За літературними даними серед хвороб шкіри собак демодекоз становить від 2 до 21%. Найбільш характерним є виникнення демодекозної інвазії у чистопорідних собак (80 %) переважно короткошерстих порід у віці від 3 міс. до 3 років. При цьому має місце спадкова схильність до хвороби. Провівши деякі власні дослідження ми зробили висновок, що собаки породи пекінес мають проблеми із цим захворюванням. Хвороба реєструється серед тварин будь-якого віку. Ураженість тварин демодексами з віком знижується.

Таким чином, для успішного розведення породи пекінес необхідний моніторинг захворювань і аналіз родоводів племінних тварин. Це дозволить спрямувати селекцію на покращення здоров'я і зменшення захворюваності на зазначені вище патології.

Семененко І., Гурін М.**ВПЛИВ ГЕНІВ ЛЕЖКОСТІ ТА ПІДВИЩЕННЯ ПІГМЕНТАЦІЇ ПЛОДУ НА ПЕКТИНОВИЙ КОМПЛЕКС ПЛОДІВ ТОМАТА***Інститут овочівництва і багаторічності УААН,**п/в Селекційне Харківського р-ну, Харківської обл., 62478, Україна**E-mail: ovoch-iob@online.ua*

Пектинові речовини є основою клітинних стінок рослинної клітини разом з іншими полісахаридами. Цим фактом і зумовлена їх основна роль у формуванні хіміко-технологічних і окремих фізіологічних властивостей плодів томата, а також продуктів їх переробки. До таких властивостей належать м'якість м'якуша плоду, стійкість до розтріскування плодів, консистенція м'якуша (Zhenhua, 1995).

Питанню впливу пектинових речовин на технологічні властивості сировини присвячено багато праць, як в Україні, так і за кордоном. Однак в селекційній практиці цій ознаці широкого вивчення не надавали. Це, з одного боку, пояснюється складністю хімічного визначення пектинових речовин, а з іншого – значним впливом на прояв цієї ознаки факторів навколишнього середовища (Жученко, 1973).

Відомо вплив на вміст пектинових речовин низки мутантних генів лежкості (*alc*, *nor*, *rin*, *Nr*, *Nr-2*, *Gr*) і генів підвищеної пігментації плодів (серія генів *hp*). Гени лежкості не тільки затримують досягання, але й різко підвищують у зрілих плодів властивість зберігатися тривалий час. Лежкість плодів томата пов'язана із блокуванням в них синтезу ферменту полігалактуронази. Гени підвищеної пігментації спричиняють багато плеiotропних ефектів, серед яких і істотний вплив на хіміко-технологічні якості плодів (Mochizuki, 1995). Ряд авторів відмічають такі властивості носіїв генів підвищеної пігментації, як висока щільність плодів (Kerr, 1955, Konsler, 1973), висока консистенція томатного пюре (Thompson, 1961), низька целюлозна активність перикарпію та полігалактуроназна активність (Francis, 1971, Love, 1963).

Вивчення колекції носіїв генів лежкості і підвищеної пігментації плоду показало, що ці гени на вміст сумарного пектину не зумовлюють суттєвого фенотипового ефекту. Вміст сумарних пектинових речовин у таких форм складав за роки досліджень в середньому 322 мг %, що істотно не відрізняє їх від звичайних сортів, які не несуть генів лежкості та підвищеної пігментації плоду. Середній вміст сумарних пектинових речовин у контрольних сортів становив в середньому 333 мг %.

За фракційним складом пектинових речовин, тобто за рівнем вмісту водорозчинного пектину і протопектину спостерігалась інша картина. Як гени лежкості, так і гени підвищеної пігментації плоду суттєво впливали на вміст водорозчинного пектину і протопектину. Середній вміст протопектину у носіїв генів лежкості та підвищеної пігментації плоду був 213 мг %, а у звичайних сортів – в середньому 170 мг %, тобто гени лежкості і підвищеної пігментації перевищують за вмістом протопектину контрольні сорти на 25 %. Середній вміст водорозчинного пектину у носіїв генів лежкості та підвищеної пігментації плоду складав 109 мг %, а у звичайних сортів – в середньому 164 мг %, тобто рослини з вказаними генами містять на 50 % менше водорозчинного пектину. Рослини з дослідженими генотипами містять переважно протопектин. У форм, що несуть гени лежкості і гени підвищеної пігментації плоду, частка протопектину в середньому складала 66%, а у звичайних сортів 51 %. Отримані дані свідчать, що досліджені гени істотно не впливають на накопичення пектинів в плодах томатів, але мають великий вплив на перерозподіл фракцій пектинових речовин через механізм блокування пектолітичних ферментів, завдяки чому плоди більш тривалий час зберігають високі технологічні властивості. Носії досліджених генів можуть слугувати джерелами високого вмісту протопектину під час селекції за хіміко-технологічними якостями плодів томатів.

Семків М., Убийвовк В.**ДОСЛІДЖЕННЯ РЕГУЛЯЦІЇ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНА *HPGSH2*, ЗАЛУЧЕНОГО В БІОСИНТЕЗ ГЛУТАТІОНУ У МЕТИЛОТРОФНИХ ДРІЖДЖІВ *HANSENULA POLYMORPHA****Інститут біології клітини НАН України, вул. Драгоманова, 14, м. Львів, 79005, Україна**E-mail: institut@cellbiol.lviv.ua*

Трипептид глутатіон (γ -L-глутаміл-L-цистеїнілглутин, GSH) – це один із найбільш поширених тіолів, що синтезується практично у всіх аеробних організмах. GSH захищає клітини про-

каріот та еукаріот від дії радіації, активних форм кисню, важких металів і електрофільних агентів, ксенобіотиків та інших токсинів, приймає участь у забезпеченні функціонування багатьох ферментів, регулюванні клітинної проліферації, передачі клітинних сигналів, апоптозу та ін.

Метилотрофні дріжджі *Hansenula polymorpha* є багатим джерелом GSH в зв'язку з участю цього тіолу в детоксикації формальдегіду, ключового інтермедіату в процесі метаболізму метанолу. GSH синтезується в цитозолі клітин в два кроки. Перша реакція лімітує швидкість синтезу, каталізується АТФ-залежним ферментом g-глутамілцистеїн синтетазою (g-GCS). Механізми генетичної регуляції біосинтезу GSH в *H. polymorpha* малоз'ясовані.

Метою даної роботи є дослідження регуляції експресії гена *HpGSH2*, що кодує фермент g-GCS. Для цієї мети було використано штам DL-1 *leu2 Δgsh2 Δura3 H. polymorpha*, трансформований репортерною касетою, що містить ген глюкозооксидази плісеневого гриба *Aspergillus niger* під промотором гена *HpGSH2*. На основі даних про активність глюкозооксидази показано, що пероксид водню, електрофільні сполуки менадіон та формальдегід, а також метанол викликають суттєве підвищення рівня транскрипції гена *HpGSH2*. Такі сполуки, як йони Cd^{2+} , 1-хлоро-2,4-динітробензен, терт-бутилгідропероксид, GSH, метіонін, цистеїн, дітіотрітол, та етанол слабо або зовсім не впливають на транскрипцію гена *HpGSH2*.

Для встановлення генів, що можуть бути задіяні в регуляції експресії *HpGSH2* гена було здійснено інсерційний мутагенез вихідного штаму лінеаризованими плазмідами pBS-*URA3* та pRALF, що містять селективні маркери біосинтезу урацилу і резистентності до антибіотика зеоцину, відповідно. Проводився скринінг отриманих інсерційних мутантів на середовищі з метанолом на предмет суттєвого підвищення чи зниження активності глюкозооксидази порівняно з вихідним штамом. Отримано 7 мутантів з вставкою pRALF та 9 мутантів зі вставкою pBS-*URA3*, що мають змінений рівень активності глюкозооксидази в цих умовах, що було виявлено в дослідах на твердому середовищі та при аналізі безклітинних екстрактів. Така зміна може свідчити про пошкодження генів транскрипційних факторів, що впливають на експресію гена *HpGSH2* у *H. polymorpha*. Проводиться робота по клонуванню ділянок геномної ДНК, що містять вставки інсерційної плазмиди з метою їх подальшого секвенування та ідентифікації пошкоджених генів.

Серга С., Демідов С.

**АНАЛІЗ ФРАГМЕНТУ ПОСЛІДОВНОСТІ ГЕНУ ПОВЕРХНЕВОГО БІЛКА WSP
WOLBACHIA З ПРИРОДНИХ ПОПУЛЯЦІЙ *DROSOPHILA MELANOGASTER* РІЗНИХ
РЕГІОНІВ УКРАЇНИ**

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Пр.Академіка Глушкова, 2, Київ, 03022, Україна

E-mail: luchiksveta05@gmail.com

Бактерії роду *Wolbachia* – найпоширеніші серед відомих бактерій-ендосимбіонтів членистоногих. Вони здатні впливати на статеве розмноження своїх господарів, можливо тим самим відіграючи важливу роль в еволюції організмів, з якими співіснують. В той же час невеликий, навіть для мікроорганізмів геном самих бактерій *Wolbachia*, який характеризується великою кількістю МГЕ, здатний вбудовуватися у геном своїх господарів. Оскільки *Wolbachia* передаються вертикально тільки через цитоплазму яйцеклітини, геноми даних бактерій можуть бути використані як показник генетичної віддаленості та відмінності особин з різних популяцій одного виду.

Ген поверхневого білка *wsp* *Wolbachia* еволюціонує швидше, ніж інші описані гени бактерії, крім того до його складу входять три гіперваріабельні регіони. Даний ген є однокопійним геном поверхневого білка бактерії, при чому на відміну від аналогічних генів альфа-протеобактерій паразитів ссавців, еволюція *wsp* не залежить від еволюції імунної системи хазяїв бактерії. На відміну від альфа-протеобактерій *Wolbachia* оточена ще однією мембраною поверх власної, що дає змогу не залежати від імунної системи хазяїна та легко пере-

ходити від одного виду до іншого (горизонтальний перенос). Саме по послідовності фрагменту гену *wsp* визначають приналежність бактерій до певного штаму.

Для дослідження були використані препарати ДНК, виділені з вибірок з природних популяцій *Drosophila melanogaster*, які були зібрані у літній сезон 2008 року у Лубнах, Пирятині, Варві, Одесі, Умані та Чорнобилі, а також препарат ДНК дрозофіл з лабораторної лінії *Canton-S*.

Методом ПЛР дані вибірки з природних популяцій були протестовані на наявність 16s рДНК *Wolbachia*. Результати показали наявність *Wolbachia* в усіх препаратах ДНК. Після цього було напрацьовано та відсеквеновано фрагмент гену поверхневого білка *wsp* *Wolbachia* (позиція 81-691). Даний фрагмент включає один гіперваріабельний регіон довжиною 41 п.о. (позиція 519-559).

Фрагменти гену поверхневого білка *wsp*, отримані з препаратів ДНК мух з Лубнів, Пирятини, Варви, Чорнобиля, Умані та лінії *Canton-S*, демонструють 95% ідентичність і відрізняються лише одонуклеотидними замінами в кінцевих ділянках фрагменту. Також вони показують 98,6% ідентичність з послідовністю фрагменту гену поверхневого білка *wsp* *Wolbachia* штаму wMel з Genbank. І лише фрагмент з препарату ДНК мух з Одеси показує 98,5% ідентичність з послідовністю фрагменту гену поверхневого білка *wsp* *Wolbachia* штаму wRi з Genbank. Отже, в природних популяціях України зафіксована *Wolbachia* двох штамів wMel (характерна для *Drosophila melanogaster*) та wRi (характерна для *Drosophila simulans*). Дані штами не є еволюційно дуже близькими і відносяться до різних підгруп. Цікаво те що, *Wolbachia* з лінії мух *Canton-S* у літературі відносять до близького до wMel штаму wMelCS, проте наше дослідження показує належність *Wolbachia* з нашої лінії *Canton-S* до штаму wMel.

Відмінностей у гіперваріабельному регіоні гену *Wolbachia* з різних природних популяцій *Drosophila melanogaster* України не виявлено. Даний гіперваріабельний регіон відрізняється лише у послідовності гену *wsp* *Wolbachia* з Одеси, який належить до іншого штаму. Зафіксовані лише одонуклеотидні заміни у кінцевих ділянках фрагменту, проте достовірність даних замін не дуже висока.

Аналіз гену поверхневого білка *wsp* показує еволюційну близькість *Wolbachia* з різних природних популяцій *Drosophila melanogaster* України, окрім *Wolbachia* з природної популяції Одеси.

Скоробогатов О.

АНАЛІЗ ФЛУКТУЮЮЧОЇ АСИМЕТРІЇ У *DROSOPHILA MELANOGASTER* З ПРИРОДНИХ ПОПУЛЯЦІЙ З РАЙОНІВ З РІЗНИМ РІВНЕМ АНТРОПОГЕННОГО НАВАНТАЖЕННЯ

Київський національний університет імені Т. Г. Шевченка

Пр.Академіка Глушкова, 2, Київ, 03022, Україна

E-mail: biobiach@mail.ru

Досліджували показник флуктуючої асиметрії в природних популяціях *Drosophila melanogaster* з районів з різним рівнем антропогенного навантаження, а саме ступеню радіаційного забруднення. Метою даного експерименту було підтвердження або спростування гіпотези, яка полягала в тому, що ступінь радіаційного забруднення впливає на підвищення показника флуктуючої асиметрії у представників з природних популяцій *Drosophila melanogaster* України.

Було проаналізовано крила по 100 особин самок та самців з кожної природної популяції. Для обробки препаратів крил і отримання даних для проведення аналізу флуктуючої асиметрії було використано програму tpsDIG2. В результаті проведеного аналізу встановлено, що представники природних популяцій *Drosophila melanogaster* міст Чорнобиля (3 популяції), Києва, Одеси, Лубнів, Пирятини, Варви, які різняться рівнем радіоактивного забруднення, статистично достовірно не відрізняються за досліджуваним показником один від одного. В зоні ділянок правих і лівих крил спостерігалася лише асиметрія, пов'язана зі статтю. Отже, можна зробити висновок про те, що асиметрія у плодовій мушки *Drosophila melanogaster* знаходиться під генетичним контролем.

Соколовський О., Пенчук Ю.

**ТЕХНОЛОГІЯ ОТРИМАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН НА ОСНОВІ
КУЛЬТУР РОСЛИННИХ КЛІТИН**

Національний університет харчових технологій

вул. Володимирська, 68, м. Київ, 01033, Україна

E-mail: penchuk-yuri@yandex.ru

Одним із основних методів у біотехнології є використання культури рослин *in vitro*. Цей метод, незважаючи на досить досконале вивчення, стикається з цілим рядом також серйозних проблем, як особливості біології деяких видів рослин у процесі введення в культуру.

Клітини рослин, що культивуються, зберігають відповідну вихідному видові рослини здатність синтезувати широкий спектр речовин вторинного метаболізму: алкалоїди, терпеноїди, глікозиди, поліфеноли, полісахариди, ефірні олії, незвичні пептиди і спеціалізовані білки, природні барвники, стероїди, прянощі, інсектициди, воски, вітаміни.

Для виготовлення лікарських препаратів фармацевтичні підприємства потребують великої кількості сировини. Забезпечення підприємств сировиною пов'язано з використанням великих площ сільськогосподарських угідь, залежністю збору сировини від сезону та тривалістю визрівання рослин (2-3 роки). Ще слід зауважити, що переважна більшість рослин є рідкісними або зникаючими видами. Розробка біотехнології одержання біологічно активних речовин, культивуючи клітини рослини-продуцента в біореакторі, дасть змогу забезпечити фармацевтичну галузь необхідною кількістю сировини впродовж всього року та запобігти знищенню зникаючих видів.

Як правило, у культурі клітин рослини *in vitro* мають нижчий склад цінних сполук, ніж інтактні рослини, і це ускладнює їх використання в промислових масштабах.

Існує ряд засобів для того, щоб підвищити продуктивність клітинної культури: відібрати як вихідний матеріал таку рослину, яка відрізняється високим вмістом потрібного продукту; оптимізувати склад поживного середовища, що дало б змогу підвищити приріст біомаси й інтенсифікувати біосинтез потрібної сполуки, використати особливості рослин для збільшення виходу цільового продукту, використати мутагенез і провести селекцію продуктивних клітин.

Метою даної роботи є розробка технології культивування клітин *Convallaria majalis* L. з метою подальшого виділення речовин кардіологічного спрямування. Також у роботі передбачається дослідити закономірності росту клітинної культури та накопичення біологічно активних речовин.

Для розробки даної технології планується сконструювати біореактор, який би дозволив культивувати клітини рослин, розробити методики, підібрати та оптимізувати умови для роботи з великими обсягами клітинного матеріалу.

Сташевська Л., Чмельова С.

**ОПТИМІЗАЦІЯ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ОТРИМАННЯ КАЛУСНОЇ
КУЛЬТУРИ ДІОСКОРЕЇ КАВКАЗЬКОЇ (*DIOSCOREA CAUCASICA* L.)**

Таврійський національний університет ім. В.І. Вернадського

пр-т Вернадського, 4, м. Сімферополь, 95007, Україна

Діоскорея кавказька (*Dioscorea caucasica* L.) – реліктова ендемічна рослина колхідської флори з ареалом, обмеженим західним Закавказзям. У своєму складі містить велику кількість стероїдних сапонінів (до 25 % від сухої ваги). Найбільш важливими з них є – діосцин, діосгенін та тіогенін, які характеризуються широким спектром фармакологічної дії. У зв'язку з обмеженістю запасів сировини *D. caucasica*, отримання клітинних культур *in vitro* та оптимізація поживного середовища, стало ціллю наших досліджень.

Матеріалом для проведення дослідження слугували надземні частини рослин *D. caucasica*, які вирощені на кафедрі фізіології рослин та біотехнології. Для отримання калусних культур, як ініціальні експланти, використовували листя, сегменти стебел, міжвузля та вузли рослин. Поверхневу стерилізацію експлантів проводили в умовах ламінарного боксу 50 % розчином препарату «Брадофен» протягом 3 хвилин з наступним промиванням стерильною водою.

Експланти висаджували на поживне середовище Мурасіге та Скуга (МС), яке доповнене 2,4 – Д (2,4- дихлорфеноксіоцетова кислота) та 6 – БАП (6- бензиламінопурин) в концентраціях: 2,4 – Д – 2,0 мг/ л; 2,0 мг/л, 6 – БАП – 0,5 мг/л; 0,2 мг/л.

Найкращі результати були отримані при використанні середовища культивування МС, модифікованого 2,4 – Д концентрацією 2,0 мг/л та 6 – БАП – 0,5 мг/л, протягом 60 діб, а при модифікації регуляторами росту 2,4 – Д в концентрацією 2,0 мг/л та 6 – БАП – 0,2 мг/л цей період складав 90-95 діб.

В ході дослідження було показано, що максимальна частота калусоутворення досягала 98,7% за 60 діб культивуванні в світлі при температурі +25-28°C.

Ступак І., Кляченко О.

ОТРИМАННЯ ІЗОЛЬОВАНИХ ПРОТОПЛАСТІВ ІЗ ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ З РІЗНИМИ ГЕНОТИПАМИ (*BETA VULGARIS L.*)

Національний університет біоресурсів та природокористування України

вул. Героїв Оборони, 15, Київ, 03041, Україна

E-mail: rnstupak@ramler.ru

У результаті еволюції людство отримало види, генотипи яких здатні пристосовуватись до екстремальних умов і забезпечувати збереження нащадків. З появою біотехнологічного підходу, зокрема культури протопластів і соматичної гібридизації, з'явилась можливість не тільки вдосконалювати вже існуючі, але й конструювати нові види рослин з бажаним комплексом ознак і властивостей.

На сьогодні актуальним є питання підвищення стійкості цукрових буряків до несприятливих факторів навколишнього середовища та отримання закріплювачів стерильності при використанні ознаки цитоплазматичної чоловічої стерильності в селекції гетерозисних гібридів. Селекційний процес цукрових буряків як дворічної культури триває 15-16 років. Удосконалення розроблених за останні 50 років методів культури протопластів та соматичної гібридизації дозволить у 3-5 разів скоротити термін роботи у порівнянні з використанням методів класичної селекції. Так як в існуючих публікаціях, на жаль, не пропонують ефективного і відтворювального протоколу, то першим етапом наших досліджень у цьому напрямку була розробка методів отримання і культивування життєздатних протопластів із калусу і мезофілу цукрових буряків. У роботі використано протокол (Dovzhenko&Koop, 2003) з рядом модифікацій, які стосуються складу розчинів виділення і культивування протопластів. В якості базового сольового складу було взято середовище MS (Murashige & Skoog, 1962). У дослідках використано насіння 7 ліній цукрових, столових та кормових буряків вітчизняної селекції. Підібрано оптимальний склад ферментного розчину для ізолювання протопластів: 0.5% pectolase, 0.2% driselase, 0.5% macerose, 0.7% pectinase, 1.2% cellulose Y-C (Kishchenko et al, 2006). Інтактні протопласти виділяли центрифугуванням у градієнті концентрації 0,7М розчину сахарози та розчину W5. При культивуванні протопласти регенерували клітинну оболонку. На 5-7-й день спостерігались перші поділи, через один місяць формувались клітинні колонії, які переносились на агаризоване модифіковане середовище MS для індукції морфогенезу. Слід зазначити, що за методикою Dovzhenko протопласти культивуються в альгінатній плівці. У наших експериментах ефективність поділу протопластів виявилась вищою при культивуванні їх в рідкому поживному середовищі і складала 10-30%. Вивчався вплив на ефективність регенерації таких речовин і гормональних регуляторів росту, як 6-бензиламінопурин, 2,3,5-трийодбензойна кислота, нафтилоцтова кислота, гібберелова кислота, тіосульфат срібла, полівінілпіролідон та ін. На даний час наша робота спрямована на вивчення впливу на регенераційну здатність калусних тканин і колоній, отриманих із протопластів, таких речовин як абсцизова та аскорбінова кислоти, а також таких факторів як холодний та тепловий стреси, культура-нянька, отримана з протопластів тютюну та ін.

Удосконалення та розробка прийомів з культури протопластів дозволять отримувати нові господарсько-цінні форми цукрових буряків із залученням генетичного матеріалу столових, кормових і диких видів.

Тимошук У.

ОТРИМАННЯ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ КУЛЬТУРИ ТКАНИН ЧЕРВОНОКНИЖНОГО
ВИДУ – ТИРЛИЧУ КРАПЧАСТОГО (*GENTIANA PUNCTATA* L.)

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
вул. М. Кривоноса, 2, м. Тернопіль, 46027, Україна
E-mail: ulyanko@gmail.com

Тирлич крапчастий (*Gentiana punctata* L.) – цінна лікарська рослина, занесена до Червоної книги України (1996), поширена у субальпійському поясі Карпат, на трав'янистих схилах, серед чагарників. Зважаючи на скорочення ареалу *G. punctata* та широкий спектр фармакологічної активності його біологічно активних речовин, для відновлення стабільності природних популяцій видів та поповнення сировинної бази, поряд з традиційними методами, доцільним є використання сучасних біотехнологічних методів і підходів. Виходячи із сказаного вище, метою даного дослідження було введення *G. punctata* в культуру *in vitro*.

Об'єктом для дослідження було вибране насіння *G. punctata*, зібране на горі Пожижевська (хребет Чорногора, Надвірнянський р-н, Івано-Франківська обл., 1480 м н.р.м), г. Брескул (хр. Чорногора, Надвірнянський р-н, Івано-Франківська обл., 1790 м н.р.м) та г. Трояська (хр. Свидовець, Рахівський р-н, Закарпатська обл., 1704 м н.р.м).

З літературних джерел відомо, що для успішного проростання насіння *G. punctata* потрібна стратифікація протягом 2-3 місяців при температурі 1–5°C (оптимум +1°C); свіжозібране насіння *G. punctata* проростає при 20°C дуже погано на світлі і не проростає в темряві (Николаева и др., 1985). При відпрацюванні умов стерилізації насіння *G. punctata* оптимальною виявилася обробка протягом 45 хв 15%-им розчином H₂O₂. Ефективність стерилізації при цьому становила 99,4% для насіння рослин з трояської популяції та 100% – з брескульської і пожижевської. Оптимальними умовами для отримання асептичних проростків *G. punctata* була холодна стратифікація (3–4°C), та обробка ГК₃ в концентрації 1000 мг/л. Термін холодної стратифікації, необхідний для ефективною схожості, відрізнявся для насіння рослин трьох популяцій і становив: один (пожижевська популяція), три (bresкульська популяція) та чотири (трояська популяція) місяці. Серед досліджених рослин найвищою була схожість насіння, зібраного на г. Пожижевська (42,5%), дещо нижчою – на г. Трояська (35%) і ще нижчою – на г. Брескул (20%).

Ріст живців *G. punctata* з усіх досліджених популяцій краще відбувався на живильних середовищах МС (Murashige, Skoog, 1962) з половинним вмістом макро- та мікро солей (МС/2), рН 5,7, доповнених низькими (0,1–0,3 мг/л) концентраціями кінетину (Кін) вкорінення – на тому ж середовищі, доповненому 0,1 мг/л 1-нафтилоцтової кислоти.

Ефективність мікроклонування *G. punctata* з трьох різних популяцій була найвищою на агаризованому середовищі МС/2, доповненому 0,5 мг/л 6-бензиламінопурину (БАП) та 0,1 мг/л Кін. Відсоток живців з мікроклонами (80,3%) та кількість сформованих адвентивних пагонів (3,22) були найвищими для рослин з трояської популяції. Застосування даного методу для розмноження виду *G. punctata* дозволило отримати значну кількість посадкового матеріалу, необхідного для поновлення чисельності зруйнованих популяцій.

Оптимальним для індукції калюсу з різних типів експлантів від рослин пожижевської, трояської і брескульської популяцій *G. punctata* було середовище МС/2, доповнене 0,1 мг/л БАП та 0,5 мг/л 2,4-дихлорфеноксіоцтової кислоти (2,4-Д). Інтенсивність калюсогенезу була найвищою на усіх типах експлантів від рослин з трояської популяції. Найменшою здатністю до калюсоутворення характеризувалися листові експланти рослин з трьох популяцій. Проведені додаткові тестування дозволили встановити, що більш сприятливим для індукції калюсу листового походження було середовище МС/2, доповнене 0,2 мг/л БАП та 0,3 мг/л 2,4-Д. Найкращу підтримуючу здатність для проліферації калюсних культур різного походження *G. punctata* має середовище МС/2, доповнене 0,1 мг/л БАП та 0,5 мг/л 2,4-Д.

Отже, нами отримано та досліджено особливості росту культури тканин *G. punctata*, отриманої від рослин з трьох популяцій цього виду.

Холодова Ю.І., Рачков О.2**ДОСЛІДЖЕННЯ УМОВ ФОРМУВАННЯ СЕНСОРНОГО ВІДГУКУ ПРИ РОЗРОБЦІ БІОСЕНСОРА НА ОСНОВІ ЯВИЩА ПОВЕРХНЕВОГО ПЛАЗМОННОГО РЕЗОНАНСУ ДЛЯ ДЕТЕКТУВАННЯ PH'-ЛЕЙКЕМІЙ.**¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка²Інститут молекулярної біології та генетики НАН України

E-mail: yulia.com@rambler.ru

Ph'-лейкемії – група лейкемій, що характеризуються наявністю філадельфійської (Ph') хромосоми (Nowell P.C., Hungerford D.A., 1960). Вона містить гібридний ген *bcr/abl*, що утворюється в результаті реципрокної транслокації між 9 та 22 хромосомами людини. Білкові продукти цього гібридного гена мають безпосереднє відношення до виникнення та перебігу Ph'-лейкемій (Lugo T.G., Pendergast A.M., Muller A.J., Witte O.N., 1990). Своєчасна діагностика захворювань, особливо у дітей, дозволяє значно підвищити шанси на одужання або перевести захворювання в стадію ремісії.

В лабораторії біомолекулярної електроніки Інституту молекулярної біології і генетики НАН України проводяться дослідження по розробці біосенсора на основі явища поверхневого плазмонного резонансу (ППР) для діагностики Ph'-лейкемій. В рамках цього напрямку головною метою даної роботи було вивчення умов детектування процесів формування біоселективної сенсорної поверхні та її взаємодії з комплементарними та некомплементарними олігонуклеотидами за допомогою спектрометра ППР “Плазмон SPR-4m”, розробленого Інститутом фізики напівпровідників ім. В.Є. Лашкарьова НАН України.

Тіольований на 5'-кінці одноланцюговий олігодезоксинуклеотид mod-Ph, послідовність якого відтворює послідовність гібридного гена *bcr-abl* у місці з'єднання фрагментів двох вихідних генів, було обрано як пробу для формування біоселективної сенсорної поверхні. Імобілізація mod-Ph на поверхні золота відбувається у 0,5 М KH_2PO_4 , pH 3,8. Для блокування тих місць на поверхні золота, які залишились вільними від тіольованих олігонуклеотидів, використовувався розчин 1-меркапто-6-гексанолу (МКГ).

Формування сенсорного відгуку вивчали в робочому буферному розчині SSC (15 mM натрій цитрату та 150 mM NaCl, pH 7.0). Специфічний сенсорний відгук досліджували при введенні у вимірювальну комірку розчинів комплементарного одноланцюгового олігонуклеотида-мішені P1. Щоб перевірити вплив неспецифічних взаємодій, вводили розчини некомплементарного одноланцюгового олігонуклеотиду N2.

В результаті досліджень показана можливість вивчення процесів імобілізації тіольованого олігонуклеотида та його гібридизації з олігонуклеотидом-мішенню за допомогою спектрометра ППР “Плазмон SPR-4m”. Не виявлено помітної імобілізації немодифікованих олігонуклеотидів на робочій поверхні спектрометра ППР ні в розчині для імобілізації, ні у робочому буферному розчині SSC. Встановлено умови ефективної імобілізації тіольованого одноланцюгового олігонуклеотида mod-Ph на поверхні золота та пасивації цієї поверхні. Було вивчено залежність відгуку ППР та його лінійність від концентрації комплементарного олігонуклеотида-мішені та стабільність відгуку біосенсора в процесі зберігання сенсорної поверхні безпосередньо в приладі при кімнатній температурі в робочому буферному розчині.

Ципік О., Осташ Б., Федоренко В.**ГЕНИ *LNDY* ТА *LNDYR*, ЩО КОДУЮТЬ ІМОВІРНУ ДВОКОМПОНЕНТНУ РЕГУЛЯТОРНУ СИСТЕМУ У *STREPTOMYCES GLOBISPORUS* 1912**

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна

E-mail: v.fedorenko@franko.lviv.ua

Бактерії роду *Streptomyces* є основними продуцентами вторинних метаболітів, які застосовуються в медицині як антибактерійні, протигрибкові та протипухлинні препарати. Регуляція антибіотиків у стрептоміцетів є об'єктом інтенсивних досліджень. Відомі різноманітні регуляторні елементи та механізми, задіяні у контролі вторинного метаболізму цих бактерій. Одними з них є двокомпонентні системи сигнальної трансдукції, які складаються з сенсорної протеїн-кінази та транскрипційного регулятора.

Streptomyces globisporus 1912 є продуцентом полікетидного антибіотику ландоміцину Е. Гени біосинтезу ландоміцину Е організовані у кластер *lnd*, який було клоновано і секвеновано. У результаті секвенування 3'-ділянки цього кластеру виявлено дві нові відкриті рамки читування. Ці гени позначили як *lndY* та *lndYR*. Аналіз їхньої нуклеотидної послідовності виявив гомологію до вже відомих компонентів двокомпонентних систем: ген *lndY* виявляє гомологію до серин-треонінових протеїн-кіназ, а ген *lndYR* - до білків регуляторів. Можливо ці гени регулюють продукцію ландоміцину Е.

З метою вивчення функції *lndY* у біосинтезі ландоміцину Е було сконструйовано плазмиди для його надекспресії (pKCOBY) та спрямованого руйнування (pKC35aadA). Для отримання pKCOBY, ген *lndY* клонували у вектор експресії pKC1218E під контроль конститутивного промотора гена стійкості до еритроміцину *permE** і забезпечує експресію *lndY*. Факт одержання плазмиди було підтверджено за допомогою рестрикційного картування. Одержану плазмиду перенесли у штам *S. globisporus* 1912 за допомогою міжродової кон'югації з *E. coli* 12567 (pUB307). Отримано транскон'югант *S. globisporus* 1912 pKCOBY. Методом тонкошарової хроматографії виявлено, що надекспресія *lndY* не впливає на рівень синтезу ландоміцину Е.

Нокаут гена *lndY* було здійснено шляхом інсерції маркера стійкості до спектиноміцину *aadA* в кодуючу послідовність гена. Для цього ген *aadA* клонували всередину кодуючої послідовності *lndY*. Одержання плазмиди pKC35aadA підтверджено рестрикційним аналізом. Проведено кон'югаційні схрещування для перенесення pKC35aadA у *S. globisporus* 1912.

Ген *lndYR* експресований у гетерологічному господарі *S. albus* R1 *moeno* 38-5⁺, який здатний синтезувати моеноміцин. Цей штам отримано шляхом перенесення косміди *moeno* 38-5⁺, що містить гени біосинтезу безхромосомних похідних моеноміцину з його продуцента *S. ghanaensis* у *S. albus*. *S. albus* R1 *moeno* 38-5⁺ є мутантом штаму дикого типу, стійким до моеноміцину. Встановлено, що цей ген пригнічує синтез антибіотику та накопичення біомаси *S. albus* R1 *moeno* 38-5⁺. Можна припустити, що *lndYR* є глобальним негативним регулятором, що контролює не лише антибіотичну продукцію, а й інші життєво важливі метаболічні процеси.

Чеботар Г. 1, Чеботар С. 1, Хохлов О.2, І. Моцний І.2

ХАРАКТЕРИСТИКА ПАРАМЕТРІВ РОЗМІРУ ЗЕРНА ЛІНІЙ-АНАЛОГІВ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ, ЩО ВІДРІЗНЯЮТЬСЯ АЛЕЛЯМИ ГЕНІВ КОРОТКОСТЕБЛОВОСТІ

¹Південний біотехнологічний центр в рослинництві УААН

Овідіопольська дор. 3, Одеса, 65036, Україна

²Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення

Овідіопольська дор. 3, Одеса, 65036, Україна

E-mail: gchebotar@rambler.ru

У зв'язку з ростом населення планети все гостріше постає проблема збільшення врожайів. Зниження висоти рослин є ефективним шляхом підвищення врожайності озимої м'якої пшениці, оскільки позитивно впливає на окремі елементи її продуктивності (Абакуменко, 1987).

Генетичний контроль ознаки висоти рослини у м'якої пшениці має складний характер. Згідно з каталогом McIntosh et. al. (2008) розрізняють 20 генів короткостебловості, їх позначають *Rht* (reduced plant height). Ці гени локалізовані в різних хромосомах і мають відмінні ефекти на агрономічні ознаки (Крупнов, Лобачев, 1988; Flinham et al., 1997; Rebetzke, Richards, 2000; Drouyer et al. 2008).

Мета роботи дослідити діапазон мінливості параметрів розміру зерна серед ліній-аналогів, що відрізняються алелями генів короткостебловості. Матеріалом для дослідження слугували лінії-аналоги озимої м'якої пшениці, створені у 1990 роках В.В. Хангільдіним у СГІ НАЦ НАІС. Лінії-аналоги достовірно різняться висотою рослин та алельним складом за генами короткостебловості *Rht8*, *Rht-B1*, *Rht-D1* (Чеботарь Г.А. и др., 2008). Вимірювали по 100 зерен з кожної лінії за допомогою комп'ютерної програми ImageJ 1.41 (National Institute of Health, USA). Визначали такі параметри, як: довжина (l_z) та ширина (d_z) зерна, площа (S_z) та периметр (P_z) проекції зерна на площину. Зерна сканували, для цього їх викладали на сканер борозенкою донизу.

За ознакою S_z усі лінії-аналоги перевищують вихідні генотипи, окрім ліній, створених на основі генотипу Кооператорка. Величина S_z лінії-аналога Кооператорка К-90 була достовірно більше ($P=0,01$), ніж S_z Кооператорки та Кооператорки К-70, які між собою не розрізнялись.

За показниками P_3 , l_3 , d_3 лінія-аналог Кооператорка К-90 достовірно ($P=0,01$) перевищувала лінії-аналоги Кооператорка К-70 та Кооператорка, окрім показника d_3 , за яким не відрізнялась від Кооператорки. За показниками P_3 та d_3 лінія Степняк перевищувала свій аналог ($P=0,05$ і $P=0,01$, відповідно), за показником l_3 ці лінії достовірно не розрізнялись. Одеська 3 перевищувала лінію Одеська 3 К-75 за P_3 ($P=0,01$) та l_3 ($P=0,01$), однак, не відрізнялась за d_3 . Лінія Одеська 51 мала достовірно вищі величини P_3 ($P=0,01$) та d_3 ($P=0,05$), ніж Одеська 51 К-73, лінія-аналог Одеська 51 К-73 за ознакою довжини зерна перевищувала лінію Одеська 51 ($P=0,05$).

Оскільки у більшості випадків введення кількох генів короткостебловості призводить до зменшення розмірів зерна, очевидно, що більша врожайність короткостеблових форм забезпечується іншими елементами продуктивності.

Для встановлення ефектів алелів генів короткостебловості на параметри розміру зерна на фоні впливу інших факторів (середовище, генотип) заплановано застосувати багатофакторний дисперсійний аналіз.

Чернушин С.¹, Соловйов О.², Лівшиць Л.²

РОЗРОБКА ТА ОПТИМІЗАЦІЯ УМОВ ДЕТЕКЦІЇ МУТАНТНИХ ВАРІАНТІВ КОДУЮЧИХ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ ГЕНА ФАГ МЕТОДОМ DGGE

1. Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

вул. Заболотного, 150, м. Київ, 03680, Україна

2. Національний технічний університет України "КПІ"

E-mail: livshits@imb.org.ua

Фенілкетонурія є широко розповсюдженим аутосомно-рецесивним захворюванням моногенної природи, що призводить до важких порушень в діяльності центральної нервової системи. Встановлено, що розвиток фенілкетонурії зумовлений наявністю мутацій у гені ФАГ. На сьогоднішній день ідентифіковано 532 мутації гена ФАГ. Найбільш розповсюджені мутації в Україні: R408W, R158Q, R252W, P281L, Y414C, R261Q. Частота носіїв мутацій в цьому гені серед населення України складає 1:43. В середньому в Україні на 7000 новонароджених народжується одна дитина хвора на ФКУ. Метою нашої роботи була розробка методики аналізу мутантних варіантів кодуючої послідовності гена ФАГ з використанням методу денатуруючого градієнтного гель-електрофорезу (DGGE). Даний метод характеризується високою чутливістю і дозволяє виявляти велику кількість мутації. Нами розроблено специфічні праймери для ампліфікації 13-ти екзонів гена ФАГ, оптимізовано умови ПІР та підбрано оптимальні умови для проведення DGGE. З банку ДНК хворих на ФКУ та членів їх родин відділу геноміки людини Інституту молекулярної біології і генетики, що налічує 223 зразки ДНК, нами було відібрано 11 зразків, у яких не було виявлено жодної мажорної мутації або виявлено одну мутацію у гетерозиготному стані. З використанням розробленої методики нами було проведено скринінг мутантних варіантів 13-ти екзонів гена ФАГ серед 11-ти хворих на ФКУ та було виявлено 12 невідомих мутантних варіантів у 3, 8, 10, 11-му ексонах. В результаті секвенування нуклеотидних послідовностей цих екзонів було виявлено один нейтральний поліморфізм L385L (11-й екзон) та мутації N61K та R111X (3-й екзон), R297H та A300S (8-й екзон), S349P та S350Y (10-й екзон).

Розроблена нами методика скринінгу алельних варіантів гена ФАГ з використанням DGGE дозволяє виявляти широкий спектр мутацій та може бути застосована в програмах масового і селективного скринінгу з метою профілактики фенілкетонурії та своєчасного лікування ФКУ в Україні.

Chernenkov A., Fedorova I., Kovaltsova S., Peshekhonov V., Korolev V.

THE ROLE OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* HSM3 AND HSM6 GENES IN SPONTANEOUS AND INDUCED MUTAGENESIS

Russian Academy of Sciences B.P. Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute

Orlova Roscha, Gatchina, Leningrad district, 188300, Russia;

e-mail: an-cher@mail.ru, lge@omrb.pnpi.spb.ru

The yeast HSM3 and HSM6 genes were discovered in eukaryotic genetics laboratory of Saint-Petersburg Nuclear Physics Institute of Russian Academy of Sciences (Fedorova et al., 1992). The hsm3 mutant was isolated on character of the increased level of spontaneous canavanine resistance mutagenesis. This mutation was found to enhance the sensitivity to mutagenic action and not to alter

the sensitivity to the lethal action of UV-light and other mutagens (Fedorova et.al., 2004). The HSM3 gene was mapped on the right arm of chromosome II on the distance of 25 cM from HIS7 gene. It was for HSM3 to have the homology with MSH2 gene controlling the main pathway of miss-match repair. HSM3 gene provides the high level of adaptive mutagenesis and controls of the minor pathway of miss-match repair (Fedorova et.al., 1998). The HSM6 gene was mapped and revealed as allele of POL12 gene (Gracheva et.al.m 2001), but for now according to the last obtained experimental data we can suppose, that these genes are not similar.

We studied about 80 interactions for both HSM3 and HSM6. Mutations in RAD51 and RAD59 genes were shown to block different branches of recombinational repair (Davis et.al., 2003; Arai et.al., 2005). Having studied the double mutants *rad51hsm3* and *rad59hsm3* in UV-light induced mutagenesis we have made a conclusion that interaction between *rad51* mutation and *hsm3* mutation is characterized like epistasis and the interaction between *rad59* mutation and *hsm3* mutation is synergism. That means that HSM3 gene is a part of RAD51-dependent repair pathway.

Special construction was designed using pYES2 plasmid with galactose operon and dominant HSM3 gene with modified C-terminus to research the HSM3 gene product super expression. After cultivating in galactose-raffinose solution for 12 hours, super expression of HSM3 product causes the significant increase of spontaneous canavanine mutagenesis level and at the same time decreases the level of UV-induced mutagenesis. This fact let us suggest that HSM3 C-terminus contains specific domain responsible for spontaneous mutagenesis.

Using *hsm3* mutant as a tester strain (Kovaltsova et.al., 1998) let us reveal the mutagenic and recombinogenic effects of the anticancer drug cis-platinum (Cis-diamminedichloride Platinum II). The values of these effects are comparable with the effects produced by UV-radiation, methylmethanesulphonate and ethylmethanesulphonate (Dolling et.al., 1999). The comparison of *hsm3-1* and *hsm3Δ* mutants on their interactions with *rad2Δ* mutant for cis-platinum lethal effect shown that HSM3 gene product contains at least 2 domains responsible for DNA binding and for the connection with other repair proteins (Chernenkov et.al., 2007).

The investigation of *hsm3* and *hsm6* mutants' interactions with mutants of RAD52 epistatic group let us declaim 2 conclusions: the first gene to control recombine-repair pathway is XRS2 gene instead of RAD52, as it was known before (Symington, 2002). Double *hsm6rad54* mutant provides hyper sensitivity to UV-light and the highest level of UV-induced mutagenesis on expositions for just 3, 5 and 10 seconds of UV-light (1,4 J/m²), that time native mutants (wild type, *hsm6* and *rad54*) do not show such results, as *hsm3rad54* does neither – UV-light exposition times for them are 30, 60 and 90 seconds.

In the near future we plan to research the spontaneous canavanine-resistant mutagenesis for *hsm3*, *hsm6* and *hsm3hsm6* mutants, to establish the sequence of HSM6 gene to prove that it is not the POL12 allele, but may be homologous to PSY4-phosphatase gene, and to show the role of HSM3 and HSM6 genes' products in artificial heteroduplex correction.

Grzybowski A., Surkont J.

ISOLATION AND PURIFICATION OF TAQ AND PFU DNA POLYMERASES

Jagieionian University, Gronostajowa 7, Krakow, Poland

E-mail: grzybowski.adrian@gmail.com

The presented results come from a spin-off of a larger project which is being done by Student Scientific Association Mygen. Goal of the whole project is the identification of potential microRNA reacting with 3'-UTR of ADAM17 transcript and could be used in further investigation of expression regulation of ADAM17 secretase. To this end the Taq and Pfu polymerases were isolated and purified which was the main aim of this subproject. Additionally we are going to provide the stock of polymerases for inner needs of Faculty and Student Scientific Association.

For production of Taq and Pfu polymerase proteins we used already made plasmids, which were transformed into Ecoli strain BL21 (DE3)pLys and grown in presence of selective agents to an OD600 of 0,6. IPTG was added to 1 mM to induce expression, cells were harvested after 5,5 h. Cleared lysate was prepared through cycles of one-minute sonifications repeated three times followed by incubation in 75°C. Afterwards, solid ammonium sulfate was added to precipitate the polymerases. Next, the ammonium sulfate precipitate was resuspended and dialyzed against storage buffer (50mM Tris-HCl

pH7.9, 50mM KCl, 0,1mM EDTA, 0,5 mM PMSF, 1 mM DTT, 50% Glycerol). Due to procedure mentioned above we were able to get 12 ml of *Thermus aquaticus* DNA polymerase with activity of 22 units per μ l and 11 ml of *Pyrococcus furiosus* DNA polymerase with activity of 3 units per μ l.

The obtained polymerases have quality and activity comparable with products of professional manufacturers. Efforts were also made to increase the quality of enzymes and enhance the procedure of isolation and purification.

We are very grateful to dr A. Górecki and Prof. M. Dziedzicka-Wasylewska from Department of Physical Biochemistry for their support and to Filip Gołębiowski for his invaluable help.

Holik A., Shorning B., Clarke A.

CHROMATIN REMODELLING ATPASE BRG-1 IS AN ESSENTIAL FACTOR FOR THE MAINTENANCE OF THE INTESTINAL CRYPT STEM CELL

*Cardiff University
Museum Avenue, Cardiff, CF10 3AX, Wales, UK
E-mail: Salvador@bio.bsu.by*

A BRG-1 is an ATP-ase subunit of SWI/SNF class of chromatin remodelling complexes with increasingly evident role as a tumour suppressor both *in vitro* and *in vivo*. However, a contrasting line of evidence suggests that BRG-1 may also act as an oncogene because of its requirement for beta-catenin to trans-activate target genes of Wnt-pathway. In order to validate the possibility and mode of this interaction *in vivo*, we have conditionally deleted BRG-1 in murine small intestine both in a normal and a Wnt-activated background.

Inactivation of BRG-1 in small intestine leads to rapid repopulation of the epithelium with wild type cells. Clusters of BRG-1 deficient cells can be detected both in crypts and villi at day 3 after induction. However, number of crypts with BRG-1 negative cells gradually decreases to complete repopulation by wild type cells at around day 19 after induction. This observation suggests that at least a portion of the crypt's proliferative pool retains its capacity for cell division upon deletion of BRG-1. However, repopulation with wild type cells in the long term indicates that BRG-1 deficiency disrupts the ability of intestinal stem cells to maintain crypt function. This coincides with the suggested role of BRG-1 as a crucial regulator of genes involved in stem cell maintenance.

Simultaneous deletion of BRG-1 and APC places BRG-1 deficiency in the context of an activated Wnt pathway and leads to even faster repopulation of BRG-1 deficient cells by wild type cells. Although BRG-1 negative cells can be detected at early time points after induction, no BRG-1/APC double mutant cells are observed at any time. In addition, all the long-term Wnt-activated lesions are composed of BRG-1 positive cells.

APC deficiency in murine small intestine confers a severe phenotype of gut failure which leads to animal death within two weeks of induction. Simultaneous deletion of BRG-1 rescues the lethal phenotype with some double mutant mice surviving past 100 days after induction. The likely explanation for this phenomenon is the elimination of a fraction of APC deficient cells mediated by BRG-1 deficiency. This notion is further supported by an earlier observation that adenomas arising from APC compromised stem cells are capable of continuous growth, as opposed to other types of Wnt-activated cells, which display restricted growth pattern.

Overall, the given results suggest that BRG-1 is a crucial factor for intestinal stem cell maintenance in both normal and Wnt-activated background.

Kołodziejski J.^a, Kotlinowski J.^a, Dominik P.^a, Dubiel M.^a, Waś H.^a, Majka M.^b, Zebzda A.^b, Lemke K.^c, Dulak J.^a, Józkowicz A.^a

DIFFERENT WAYS OF PRODUCTION OF B16F10 CELL LINES WITH STABLE OVEREXPRESSION OF HEME OXYGENASE-1

^aDepartment of Medical Biotechnology, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology Jagiellonian University, Gronostajowa 7, Kraków, Poland e-mail: kuba.kolodziejski@gmail.com

^bInstitute of Transplantology, Collegium Medicum, Jagiellonian University, Kraków, Poland

^cR&D Department, Adamed, Pieńków, Poland

Retroviral vectors (RVs) are one of the most common vehicles used in genetic transformation and gene therapy approaches both *in vitro* and *in vivo*. Main advantage of these carriers is the possi-

bility of integrating viral cDNA into host genome of a wide variety of organisms, resulting in the long term transgene expression. The aim of this study was to show different ways of production of B16F10 (murine melanoma) cell lines with stable overexpression of heme oxygenase (HO-1) alone or HO-1 and reporter genes, which might be easily detected *in vivo*.

For production of RVs able to infect B16F10 cells we used PT67 packaging cells. RVs were collected from culture medium after cotransfection of packaging cells with backbone and helper plasmids. First method of production was based on two- step genetic modification: first we used backbone plasmid encoding reporter genes (pBMN-Luc-I-GFP) and later pLNCX2-HO-1. Next step was a selection of GFP -positive cells using MoFlo sorter. Second method was based on infection of B16F10 cells with RVs containing pLNCX2-HO-1 and selection using geneticin resistance gene. Obtained cell lines show strong overexpression of HO-1 detected both at mRNA and protein levels. First line has a very strong expression of luciferase. Presence of reporter genes facilitates tracing down and detecting the modified B16F10 cells in mice by chemiluminescent reaction to monitor tumor growth using IVIS imaging system.

To conclude, retroviral vectors are very potent carriers for permanent modification of B16F10 cells. Obtained cell lines, with long lasting expression of HO-1 and reporter genes are very useful for *in vitro* and *in vivo* applications.

Kruczek K., Dulak J.

SHAPING THE GENETICAL SYRINGE – ADVANCES IN ADENOVIRAL VECTORS CONSTRUCTION.

Jagiellonian University, Gronostajowa 7, Krakow, 30-387, Poland

E-mail: kamilkruczek@uj.edu.pl

Adenoviruses (*Adenoviridae*) comprise a family of non-enveloped icosahedral viruses of circa 60 – 90 nm in diameter with a 30 – 40 kb linear double-stranded DNA genome (Volpers, Kochanek, 2004). The capsid is composed of major capsid protein called hexon, and pentons with fiber-like protrusions responsible for attachment to a cellular receptor, mainly CAR (coxsackie virus and adenovirus receptor). After receptor-mediated endocytosis the virion is transported to the nucleus, where transcription of viral genes occurs (Benihoud, et al, 1999). Over 50 serotypes have been identified so far, of which usually 2 and 5 are used in practical applications (Kay, et al 2001; Dormond, et al, 2009). Recombinant adenoviruses have been extensively used as a vector for gene transfer, (Channon, George, 1997) because of favourable properties such as efficient transduction of various cell types, as well quiescent as dividing (St George, 2003), low pathogenicity *in vivo* and possibility of production in high titers (Volpers, Kochanek, 2004). However, transduction is transient usually lasting about 4 weeks (Channon, George, 1997) and may evoke a strong immune response hindering further readministration of a virus of the same phenotype (Sakurai, et al, 2007). Nevertheless, adenoviruses are currently the most often used vectors for gene therapy clinical trials (24,9 % in 2008 (www.wiley.co.uk/genmed/clinical)). The method of vector construction from wild-type virus is based on deletions in early genes essential for initiating viral replication, transcription and protein synthesis. First generation vectors result from replacing the E1 gene required for activation of early genes by a transgene (Ghosh, et al., 2005). Relatively high immunogenicity of such a vector can be overcome by elimination of all viral coding sequences resulting in so-called ‘gutless’ vectors (Jyzkowicz, Dulak, 2005). Recent endeavours in development of adenoviruses as vectors have focused on reduction of immunotoxicity, accommodation of longer sequences, altering virus tropism, improved stability and control of transgene expression (Benihoud, et al, 1999). Strategies for reducing immune responses to the treatment include minimization or elimination of viral genes, coadministration of anti-inflammatory agents and pretreatment with steroid drugs (St George, 2003). Many efforts are also spent on rendering the selectivity of viral infection by changing the primary receptor for viral particles entry thus allowing lowering the required therapeutic vector dose (Ghosh, et al., 2005) and control of transgene expression by a range of viral or cell specific promoters. These various approaches contribute to improving the characteristic of adenoviruses as vectors for gene transfer.

Voloshyna I., Pirog T.

**DEVELOPMENT OF THE TECHNOLOGY OF SURFACE ACTIVE SUBSTANCES
SYNTHESIS BY OIL-OXIDIZING BACTERIA**

*National University of Food Technologies
Volodymyrska st., 68, Kyiv, 01033, Ukraine
E-mail: i_woloschina@yahoo.com*

The thesis is devoted to the development of technology of surface-active substances synthesis by *Rhodococcus erythropolis* EK-1 isolated from oil-polluted soil.

It was established, that *R. erythropolis* EK-1 synthesizes free and associated with cell surface-active substances (SAS). The SAS are complex of glycolipids, phospholipids and neutral lipids with polysaccharide-protein substances.

Developed technology of surface-active substances has some advantages comparing with existing ones, such as, low content of mineral salts in media (3 g/l, for other producers – 10 g/l), absence of microelements and growth factors, higher (on 50 – 80 %) yield of surface-active substances from substratum.

Was established the opportunity of using microbial surface-active substances and immobilized *R. erythropolis* EK-1 cells on claydite for degradation of oil contaminations. The efficiency of oil polluted water (100 – 200 mg/l) cleared by immobilized *R. erythropolis* EK-1 cells was 99,5 – 99,8 %, level of oil (2 %) destruction by enrichment culture of oil oxidizing bacteria with *R. erythropolis* EK-1 and exogenous surface active substances were 90% and 93 – 94 %, respectively.

Wegrzyn A., Kozakowska M., Kotlinowski J., Stefacska A., Dulak J., Jyzkowicz A.

PRODUCTION OF C2C12 CELL LINES WITH STABLE OVEREXPRESSION OF HO-1

*Jagiellonian University, Krakow, Poland
E-mail: alicja.jozkowicz@uj.edu.pl*

Diabetic foot is one of the chronic complications connected with diabetes mellitus. Due to arterial abnormalities and diabetic neuropathy, infections, delayed wound healing or even gangrene of the foot are relatively common. Moreover, diabetic mellitus impairs myoblasts proliferation.

Heme oxygenase-1 (HO-1) is a pro-angiogenic, anti-inflammatory enzyme that plays a role in wound healing. Importantly, a stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) upregulates HO-1 expression in endothelial cells and accordingly, SDF-1-induced endothelial tube formation and migration is being impaired in HO-1-deficient cells.

The aim of our study was production of C2C12 murine myoblasts stably overexpressing HO-1 as a potential tool for increasing angiogenesis and improve wound healing in mice.

For production of stably transduced C2C12 cells we have chosen retroviral vectors (RVs). Their major advantage is integration the viral cDNA into host genome, which leads to a long-term expression of transgene. RVs were generated using F-NIX Eco packaging cell line. They were collected from culture medium after cotransfection of packaging cells with backbone and helper plasmids. For both cell lines we applied a method based on two-step genetic modification: first we used backbone plasmid encoding reporter genes (pBMN-Luc-I-GFP) and later pLNCX2-HO-1 line. Next step was a selection using geneticin resistance gene. Obtained cell line shows strong overexpression of transgenes detected both at mRNA and/or protein level. Importantly, we have demonstrated that overexpression of HO-1 increases viability and angiogenic potential of C2C12, measured by MTT reduction assay and by stimulation of endothelial cell proliferation, respectively. Such cells released also more SDF-1. In contrast, basal and LPS-induced production of IL-8 and VEGF were not influenced.

Retroviral vectors are very potent carriers for permanent modification of C2C12 cells. The C2C12-Luc-I-GFP-HO-1 cells proliferate quickly, produce anti-inflammatory cytokines (IL-8), increase angiogenesis (VEGF) and endothelial cells recruitment (SDF-1). A C2C12-Luc-I-GFP-SDF-1 cell line is going to be produced and examined. Obtained cell line, with stable expression of HO-1 could be used for treatment of wounded or ischemic muscles in diabetic mice.

МІКРОБІОЛОГІЯ, ВІРУСОЛОГІЯ ТА ІМУНОЛОГІЯ MICROBIOLOGY, VIROLOGY AND IMMUNOLOGY

Абдуліна Д., Пуріш Л.

МОРФОЛОГО-ФІЗІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ СУЛЬФАТВІДНОВЛЮВАЛЬНИХ БАКТЕРІЙ ВИДІЛЕНИХ ІЗ ТЕПЛОМЕРЕЖ М. КИЄВА

*Інститут мікробіології і вірусології НАНУ
вул. Заболотного, 154, м. Київ, 03680, Україна
E-mail: ceno@serv.imv.kiev.ua*

Мікробна корозія наземних і підземних споруд наразі набула глобального характеру. Численні факти свідчать про те, що бактерії сприяють виникненню осередків корозії на ділянках магістральних газо- та нафтопроводів, на кабелях зв'язку, залізобетонних спорудах та на промисловому обладнанні. Нагальною проблемою є вивчення участі мікроорганізмів у процесах внутрішньої корозії трубопроводів міських теплотрас. Розповсюдження мікроорганізмів у теплотрасах призводить не лише до корозії металу, але й до зниження якості питної води, біообростання трубопроводних систем. Корозію обладнання можуть викликати бактерії циклів сірки, заліза й азоту. В анаеробних умовах, притаманних закритим водопровідним системам, основними корозійно небезпечними бактеріями є сульфатвідновлювальні бактерії.

Вивчення сульфатвідновлювальних бактерій виділених із теплотрас, є перспективним і актуальним, оскільки такі дослідження необхідні для попередження їх негативного впливу на ці системи та розробки ефективних методів захисту.

Проведено обстеження корозійно небезпечних ділянок теплотрас м. Києва, які експлуатувалися за температур 35-60°C. Виявлено, що у зразках слизу та продуктах корозії сталевих і латунних деталей трубопроводів (з'єднувальних калачів, ділянок труб міських теплотрас) розповсюджені корозійно небезпечні бактерії циклів сірки, заліза та азоту, серед них були присутні у значній кількості сульфатвідновлювальні бактерії.

Виділено 6 штамів сульфатвідновлювальних бактерій. Клітини бактерій виявилися грам-негативними, поодинокими або з'єднаними попарно, невеликими рухливими вигнутими паличками. З виділених штамів 5 були неспороутворюючі, один спороутворюючий. Бактерії росли за присутності лактату, використовували як акцептор електронів сульфати, тіосульфати та сульфіти. Бактерії витримували та розвивалися за присутності хлориду натрію у концентрації до 10%.

Зважаючи на те, що в теплотрасах було зафіксовано появу сірководню, який є продуктом метаболізму сульфатвідновлювальних бактерій та найбільш агресивним чинником корозії, було досліджено продукування сірководню досліджуваними бактеріями у діапазоні температур від 20 до 50°C. Температурний діапазон був обраний виходячи з умов експлуатації теплотрас. Середні показники накопичення сірководню досліджуваних штамів були у межах 250 - 350 мг/мл. Виявлено певну залежність між продукуванням сірководню та температурою виділення. Термотолерантні штами, виділені за температури 60°C, показали найбільше продукування сірководню (до 410 мг/мл) за температур 42-47°C, що майже на 50% більше, ніж за температури 20°C. Мезофільні штами, виділені при 35-40°C, продукували сірководень (до 325 мг/мл) найкраще за температури 28°C; за температур 42-47°C продукування сірководню цими культурами зменшувалося на 15%. Така варіабельність продукування сірководню вказує на пристосування до умов існування у теплотрасах і свідчить про толерантність виділених культур до високих концентрацій сірководню.

Отже, подальше вивчення фізіологічної активності сульфатвідновлювальних бактерій, дозволить розробити ефективні методи захисту від бактерій та запобігти руйнуванню трубопроводів.

Атамчук О., Голембієвська С., Остапчук А., Мацелюх Б.
ОСОБЛИВОСТІ БІОСИНТЕЗУ КАРОТИНОЇДІВ МУТАНТАМИ
***STREPTOMYCES GLOBISPORUS* 1912**

Інститут мікробіології і вірусології НАН України
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ МСП, ДО3680, Україна
E-mail: golembiovska@ukr.net

Каротиноїди являють собою один з найпоширеніших класів природних пігментів, що синтезуються рослинами, грибами та мікроорганізмами. Мікроорганізми, що синтезують каротиноїди, є промислово вигідними продуцентами каротиноїдів порівнянно з рослинами, оскільки мікробіологічна галузь долає низку багатьох сільськогосподарських проблем. На сьогоднішній день відомо, що не тільки фотосинтезувальні мікроорганізми мають здатність до синтезу даних пігментів. Досліджено, що каротинсинтезувальні стрептоміцети становлять 15% усіх актиноміцетів. У літературі описані природні та мутантні штами окремих видів стрептоміцетів, які синтезують каротиноїди: *Streptomyces chrysomallus* var. *carotenoides*, *S. mediolani*, *S. ambofaciens*, *S. citrius*, *Streptomyces setonii*, *S. griseus*, *S. coelicolor* A3(2). Здатність до біосинтезу каротиноїдів у стрептоміцетів не є стабільною ознакою і може втрачатися з великою частотою.

Природному штамові *S. globisporus* 1912 притаманна висока спадкова мінливість ознак, причиною якої можуть бути дефектний профаг і наявність інвертованих повторів ДНК на кінцях хромосоми. У вихідного штаму, як правило, спонтанно з'являються нестабільні колонії із різними властивостями. Одними з таких є каротинсинтезувальні штами, які були отримані у відділі генетики мікроорганізмів спонтанно та під дією мутагенів.

Дослідження міцелію за допомогою світлового мікроскопа показало, що порівнянно із вихідною культурою у каротинсинтезувальних мутантів особливих відмінностей у формуванні гіф не виявлено. При вирощуванні в рідкому середовищі на качалках $t = 28, 24$ об/хв, $pH=7$ всі каротинсинтезувальні мутанти, як і вихідна культура, утворюють довгі гіфи, що формують пелети.

Каротинсинтезувальні штами відрізняються один від одного за забарвленням колоній поверхневого міцелію. Як з'ясувалося, різноманітність забарвлення продиктована синтезом різної кількості каротиноїдів. Ідентифікацію пігментів проводили за допомогою методів хроматографічного дослідження та спектрофотометрії екстрактів міцелію штамів з біосинтезом каротиноїдів. Для контролю використовували екстракти плодів помідору та міцелій гриба *Blakeslea trispora*. Було з'ясовано, що штами червоного кольору синтезують два каротиноїди, R_f яких збігається з лікопіном і бета-каротином (0,8). Натомість рожево забарвлені штами синтезують лише один каротиноїд, рухливість якого анологічна R_f лікопіну помідорного екстракту (0,5). За допомогою методу спектрофотометричного аналізу смуга з хроматографічною рухливістю 0,5 ідентифікована як лікопін: максимуми спектрів поглинання препаратів лікопіну в ацетоні становлять 445, 472, 505 нм, які збігаються з аналогічними максимумами лікопіну томатів. Тобто рожеві штами синтезують один каротиноїд – лікопін. Верхня смуга давала два піки поглинання в петролейному ефірі 447,5 і 475 нм, який збігається з максимумом поглинання бета-каротину.

Методом вискоефективної рідинної хроматографії (хроматограф Agilent 1200) було підтверджено, що червоні штами синтезують два основних каротиноїди: лікопін та бета каротин. Рожеві штами не синтезують бета-каротину, а накопичують його попередник - лікопін у значно більшій кількості.

Отже, всі каротинсинтезувальні штами *S. globisporus* 1912 продукують каротиноїд - лікопін. Рожеві мутанти мають генетичний блок гена *crt Y*, що кодує лікопін циклазу і блокує перетворення лікопіну в бета каротин. Дана мутація є стабільною, що робить штам перспективним об'єктом для розробки біотехнології одержання лікопіну і для дослідження генетичного контролю біосинтезу лікопіну.

Бабенко Л., Воронкова О., Вінніков А.

**ДИНАМІКА ЗМІНИ МІКРОБНОГО ПЕЙЗАЖУ УРОГЕНІТАЛЬНОГО ТРАКТУ
ПРИ ЗАСТОСУВАННІ АНТИБІОТИЧНОГО ПРЕПАРАТУ «АМОКСІКЛАВ»**

Дніпропетровський національний університет ім. О. Гончара

пр. Гагаріна 72, м. Дніпропетровськ, 49050, Україна

E-mail: tigrenok_1331_@pochta.ru

Відомо, що індигенна мікрофлора відкритих порожнин має суттєве значення у підтримці імунного статусу та гомеостазу організму. У зв'язку з цим, склад та біологічна активність бактерій різних біотопів є чинниками підтримання екологічної рівноваги мікробіоценозів відкритих порожнин і, насамперед, урогенітального тракту (Сартова Н.С., 2007). Порушення мікроекологічної рівноваги різних біотопів призводять до серйозних ускладнень та дисфункції різних систем органів (Андреева И.В., 2008). Порушення мікрофлори урогенітального тракту, як відомо, спричиняють негативну дію на репродуктивне здоров'я жінки та фізіологічний перебіг вагітності. Існує значна кількість даних, які дають змогу припустити, що порушення мікробіоценозу можуть бути наслідками неадекватної антибактеріальної терапії (Белякіна И.В., 2008). При призначенні препаратів у першу чергу звертають увагу на клінічні дані, спектр дії препарату, фармакокінетику тощо. У той же час не завжди враховують можливі негативні наслідки застосування антибіотиків.

Сьогодні для лікування захворювань урогенітального тракту використовують багато препаратів, що містять антибіотичні речовини. Нами було обрано амоксицилін/клавуланову кислоту («Амоксиклав», «Лек», Словенія) – Я-лактамний антибіотик, що часто використовується в терапії інфекційних захворювань урогенітального тракту (Плужникова Т.А., 2008).

Експеримент проводили на самицях білих лабораторних мишей. У дослідках було застосовано антибіотик в концентраціях, що відповідали максимальній та 50% і 75% від максимально можливої дози (Спиридонова Н.В., 2008). Курс введення антибіотика тривав 5 днів поспіль. В якості критерію змін у динаміці стану біоценозу було обрано відношення аероби : анаероби, яких виділяли з урогенітального тракту мишей протягом 30 діб.

У дослідках на мишах встановлено, що при антибіотичному навантаженні співвідношення анаероби : аероби змінюється на користь анаеробів. Так, найменшим відношення анаеробів до аеробів є в контрольній групі тварин: в нормі воно становить 74:1. В експериментальній групі на 10-й день визначено співвідношення 132:1. В серії дослідів встановлено, що інтравагінальне введення препарату призводить до зростання частки умовно-патогенних мікроорганізмів і зменшення представників сапрофітів, що властиве і розвиткові дисбіотичних явищ.

Так, у піддослідній групі відмічено зниження частоти виявлення та титру мікроаерофільних (у 2,0 рази та 1,73 рази відповідно) та анаеробних (у 1,11 та 1,51 рази відповідно) лактобацил. Натомість, зростає титр таких мікроорганізмів, як: бацили (в 1,41 рази); представники родини ентеробактерій (в 11,22 рази). Зростає і кількість облигатно-анаеробних бактерій: пептококів (в 4,79 рази), пептострептококів (в 2,14 рази), фузобактерій (в 3,63 рази) та бактероїдів (в 2,29 рази). Зростає частота виявлення пептококів, пептострептококів, фузобактерій та бактероїдів, а також бацил, ентерококів та представників родини ентеробактерій.

Амоксицилін/клавуланова кислота є другим за частотою застосування препаратом з групи β-лактамів. Його призначають у 58% випадків ведення вагітним пацієнткам з інфікуванням сечовивідних шляхів. В наших експериментах препарат є ефективним проти більшості визначених нами у тварин родів мікроорганізмів, окрім представників родини ентеробактерій. Підсумовуючи результати досліджень, можна зробити висновки про те, що застосування антибіотичних препаратів призводить до порушення рівноваги мікробіоценозу урогенітального тракту у лабораторних тварин. Таким чином, експериментальне інтравагінальне введення антибіотиків пеніцилінового ряду може виступати в якості чинника дисбіотичних явищ урогенітального тракту.

Бас М., Перетятко Т.

ПСИХРОФІЛЬНІ ШТАМИ СУЛЬФАТВІДНОВЛЮВАЛЬНИХ БАКТЕРІЙ

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського 4, м. Львів, 79005, Україна

E-mail: t_peretyatko@franko.lviv.ua

Внаслідок забруднення водойм токсичними речовинами гостро постає проблема підтримання сталості розвитку екосистем. Сульфатвідновлювальні бактерії привертають увагу дослідників як потенційні агенти очистки стічних вод, забруднених важкими металами і сульфатами. Пріоритетним в біотехнологічних системах є використання чистих культур сульфатвідновлювальних бактерій. Окрім сульфатів сульфатвідновлювальні бактерії як акцептори електронів можуть використовувати деякі метали зі змінною валентністю (Cr(VI), V(VI), Tc(VI), та ін.), відновлюючи їх до менш токсичних форм. В умовах бореального клімату існує перспектива використання сульфатвідновлювальних бактерій, стійких до низьких температур і до зниженої кислотності середовища. Застосування мікробних процесів очищення навколишнього середовища від сульфатів і важких металів розглядається як альтернатива до використання хімічних методів.

З анаеробної зони водойми, розташованої на території Яворівського сіркового родовища, виділені психрофільні сульфатвідновлювальні бактерії. Дослідження ростових потреб, здатності утворювати спори, характерна паличкоподібна форма, ріст у середовищі з лактатом, ацетатом, глюкозою арабінозою, лактозою, рафінозою, сорбітом, дульцитом і відсутністю росту в середовищі з етанолом, пальмітатом, сукцинатом і пропіонатом дає підстави віднести виділені штами до роду *Desulfobacter*.

Виділені бактерії у середовищі з сульфатами й органічними сполуками інтенсивно перетворюють сульфати до сірководню. Оптимальною температурою для росту виділених бактерій виявилась 12°C, що дає підстави вважати виділені культури перспективними для біотехнологічного використання при очищенні забруднених сульфатами середовищ в умовах бореального клімату.

Богдан Ю., Буценко Л., Пасічник Л.

ЖИРНІ КИСЛОТИ PSEUDOMONAS SYRINGAE PV. ATROFACIENS

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ

вул. Заболотного, 154, Київ МСП, Д 03680, Україна

E-mail: bogdan.julia@gmail.com

Pseudomonas syringae pv. *atrofaciens* є збудником базального бактеріозу пшениці, широко розповсюдженим на території України. Патоген спричиняє ураження рослин у всіх фазах розвитку, знижує врожайність та погіршує якість зерна. Тому встановлення етіології захворювань та ідентифікація цього виду бактерій є актуальними.

Для визначення видової приналежності мікроорганізмів поряд з культуральними, морфологічними та молекулярно-генетичними методами, також важливими є і біохімічні. Зокрема, велике значення для швидкої ідентифікації бактерій має визначення складу жирних кислот їхніх клітинних ліпідів, що і було метою нашої роботи по відношенню до штамів *P. syringae* pv. *atrofaciens*.

У роботі досліджували 13 штамів *P. syringae* pv. *atrofaciens*, ізольованих з уражених бактеріозом тканин пшениці сортів Авангард, Поліська 90, Рання 93, Скакун у 2006 і 2007 роках у Київській та Вінницькій областях України. Жирнокислотний склад визначали методом газорідної хроматографії (Brian, 1967).

У клітинах досліджуваних штамів бактерій були виявлені жирні кислоти, властиві представникам виду *P. syringae*, а саме: насичені (додеканова, тетрадеканова, гексадеканова, октадеканова), ненасичені (*цис*-9-гексадеценнова, *цис*-11-октадеценнова), оксикислоти (3-оксидеканова,

2-оксидодеканова) та циклічна кислота (цис-9,10-метилгексадеканова). Основними жирними кислотами є гексадеканова, *цис*-9-гексадеценева та *цис*-11-октадеценева жирні кислоти, вміст яких становив від 27 до 34 %, від 31 до 44 % та від 18 до 34 % відповідно.

Відомо, що для певних груп бактерій притаманний характерний спектр жирних кислот (Stead, 1992), зокрема у більшості фітопатогенних бактерій вміст 2-оксидодеканової кислоти становить менше 3%, сумарний вміст *цис*-9-гексадеценевої та *цис*-11-октадеценевої жирних кислот – більше 52 %, а відношення гексадеканової до *цис*-9-гексадеценевої кислоти не перевищує 0,9. За кількісним складом жирних кислот 12 досліджуваних штамів відповідають вказаним співвідношенням та подібні до типового *P. syringae* pv. *syringae* УКМ В-1027 і нетипового *P. syringae* pv. *atrophicus* УКМ В-1011, що підтверджує проведену раніше класифікацію за допомогою культуральних методів. Серед досліджуваних штамів лише один *P. syringae* pv. *atrophicus* 9443 відрізняється за кількісним вмістом окремих жирних кислот, хоча за іншими фенотиповими ознаками він близький до *P. syringae*.

Отже, за кількісним та якісним складом жирних кислот клітинних ліпідів більшість досліджених штамів належить до виду *P. syringae*. Лише один з 13 виділених штамів значно відрізняється від типових представників цього виду і потребує уточнення свого систематичного положення.

Давидко Н., Білінська І.

МІКРОБНЕ ПСУВАННЯ НАСТІННОГО РОЗПИСУ

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

E-mail: rania@ukr.net

Мистецтво українців вважається одним із найбагатших надбань культурної скарбниці європейської нації. У багатьох музеях, художніх галереях, соборах, церквах є сотні тисяч унікальних пам'яток історії – це високохудожні вироби з паперу, тканини, шкіри, дерева, каменю, а також твори живопису та графіки.

Внаслідок значного поширення в природі, різноманітного набору пігментів мікроорганізми здатні використовувати для живлення і місця проживання різні субстрати, спричиняючи псування та роблячи ці субстрати непридатними. Зокрема, мікроорганізми можуть пошкоджувати унікальне ліплення, живопис, мозаїку і цим порушувати неповторний архітектурно-художній вигляд споруди.

Метою цієї роботи було вивчення мікроорганізмів, здатних спричиняти псування творів настінного живопису.

Об'єктом досліджень був настінний розпис, виконаний Юліушем Макаревичем протягом 1904-1905 рокаів, що знаходиться у Науковій бібліотеці Львівського національного університету імені Івана Франка на вулиці Драгоманова, 5. Стінопис був сильно пошкоджений через недотримання температурно-вологісного режиму та замокання. Це призвело до знебарвлення розпису, місцями сильного осипання фарбованого шару і навіть штукатурки; у деяких ділянках незброєним оком було видно наліт плісняви, що дозволило зробити висновок про біопшкодження цього розпису.

Було проведено відбір мікроорганізмів з поверхні стінопису за допомогою стерильного ватного тампона на поживне середовище – сусло-агар для виявлення грибів та бактерій. Оскільки місцями спостерігалося замокання розпису, то зробили відбір і для виявлення водоростей на рідке й агаризоване середовище Бенке та Емерсона-Льюїса. Усі культури грибів і мікроорганізмів було виділено у чисту культуру. Всього з поверхні настінного розпису було виділено 10 видів бактерій і 20 видів грибів. Бактеріальна мікрофлора була представлена грампозитивними, пігментованими паличками та коками, зокрема представниками родів *Bacillus*, *Micrococcus* і *Sarcina*.

Усі виділені культури пліснявих грибів належали до вищих грибів, оскільки їхній міцелій був септованим, на кінцях конідій утворювалися нестатеві спори – конідіоспори. Культурі пігментовані. За типом галуження конідієносців і за іншими морфологічними ознаками можна припустити приналежність виділених культур грибів до родів *Penicillium*, *Aspergillus*, причому пеніцилів було виділено вдвічі більше за аспергілів, що свідчить про домінування представників роду *Penicillium* у грибній флорі.

Окрім бактерій і пліснявих грибів з досліджених поверхонь були виділені мікроводорості. Найкращий їхній ріст був у рідкому середовищі, що супроводжувався його помутнінням, а на твердому лише у шести пробах на середовищі були помітні невеликі жовтуваті плями. Мікроскопуванням встановлено, що це нитчасті будови водорості зеленого, рожевого, фіолетового, жовтого забарвлення та безбарвні.

Оскільки основним джерелом інфекції у приміщеннях такого профілю є переважно мікрофлора повітря, було звернено увагу на визначення мікробного числа повітря приміщення читального залу, де містився розпис. Середня кількість КУО в 1 м³ становила 1966 і коливалася від 1639 до 2610. Мікрофлора повітря була представлена пліснявими грибами і бактеріями, проте у всіх пробах виявлялося набагато більше пліснявих грибів ніж бактерій. Співвідношення гриби-бактерії становило від 4:1 до 20:1. Гриби були представлені пеніцилами і аспергілами.

Таким чином встановлено, що найважливішою причиною руйнування настінного розпису є мікроскопічні гриби та меншою мірою бактерії. Тому для вирішення цих проблем необхідно розробляти методи збереження, консервації та реставрації, спрямовані насамперед проти пліснявих грибів.

Деркач М., Мороз О., Борсукевич Б., Гудзь С.

ВПЛИВ КАДМІЮ НА УТВОРЕННЯ СІРКОВОДНЮ *DESULFOVIBRIO DESULFURICANS*

..Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна

E-mail: microbio@franko.lviv.ua

Кадмій міститься у природних водах, атмосферних опадах, стічних водах металургійних, машинобудівних, приладобудівних, хімічних, виробництв літаків, автомобілів, акумуляторів, пластмас, та ін. і відноситься до числа сильно отруйних речовин. Смертельна доза для людини складає 150 мг/кг маси тіла з летальним ефектом через 1,5 год, метал в основному накопичується у печінці, нирках, підшлунковій і щитовидній залозах.

Вивчали ріст штамів *Desulfovibrio desulfuricans* K-45 і Ya-11 у модифікованому середовищі Кравцова-Сорокіна впродовж 14 діб при 30° С в присутності іонів кадмію у концентраціях: 0,1-1 мМ. За концентрацій кадмію 0,1-1 мМ біомаса K-45 виявилася 2,64±0,08 – 2,81±0,04 г/л (контроль: 1,96±0,06 г/л) (p ≥ 0,05), Ya-11 – 2,05±0,01 - 2,64±0,08 г/л (контроль: 1,59±0,2 г/л) (p ≥ 0,05).

Оскільки іони кадмію за концентрацій 0,1-1 мМ суттєво не впливали на ріст штамів *D. desulfuricans*, перевіряли їх ріст у присутності металу у концентраціях 1-10 мМ. Як показали результати, негативний вплив іонів кадмію на ріст штамів *D. desulfuricans* K-45 і Ya-11 у концентраціях понад 3 мМ виявився досить значним, особливо починаючи з 11 доби росту. На 4 добу росту у середовищі у присутності іонів кадмію біомаса K-45 знижувалася із зростанням концентрації металу від 2,05±0,05 г/л при 1 мМ до 0,59±0,03 г/л при 10 мМ; біомаса Ya-11 знижувалася від 2,07±0,02 г/л при 1 мМ до 0,81±0,07 г/л при 10 мМ. На 19 добу росту за концентрації кадмію 10 мМ біомаса K-45 виявилася рівною 0,06±0,01 г/л (контроль: 1,55±0,01 г/л) (p ≤ 0,05), Ya-11 – 0,13±0,01 г/л (контроль: 1,61±0,09 г/л) (p ≤ 0,05).

Досліджували кінетику утворення сірководню та відновлення сульфатів під час росту інтактних та інкубованих впродовж 1 год у присутності 3 мМ Cd²⁺ клітин сульфатвідновлювальних бактерій у модифікованому середовищі Кравцова-Сорокіна. На 14 добу росту кількість сірководню, утвореного інкубованими із кадмієм клітинами K-45, становила 1,06±0,06 мМ, Ya-11 – 1,10±0,08 мМ (контроль: K-45 – 2,40±0,03 мг/л, Ya-11 – 2,43±0,05 мг/л) (p ≤ 0,05).

На 14 добу росту концентрація сульфатів у середовищі з інкубованими із кадмієм клітинами штаму *K-45* становила $2,45 \pm 0,02$ мМ, *Ya-11* – $2,72 \pm 0,02$ мМ, у контрольних варіантах відповідно $1,34 \pm 0,02$ і $0,60 \pm 0,02$ мМ ($p \leq 0,05$).

Вивчено кінетику утворення сірководню та відновлення сульфатів під час росту інтактних та вирощених протягом 7 діб у присутності 3 мМ іонів кадмію клітин сульфатвідновлювальних бактерій. На 17 добу росту кількість сірководню, утвореного вирощеними у присутності кадмію клітинами *K-45*, становила $0,81 \pm 0,03$ мМ, *Ya-11* – $0,83 \pm 0,05$ мМ (контроль: *K-45* – $2,50 \pm 0,06$ мМ, *Ya-11* – $2,45 \pm 0,02$ мМ) ($p \leq 0,05$). На 17 добу росту концентрація сульфатів у середовищі з вирощеними у присутності кадмію клітинами штаму *K-45* виявилася рівною $2,98 \pm 0,03$ мМ, *Ya-11* – $2,90 \pm 0,02$ мМ, у контрольних варіантах відповідно $0,65 \pm 0,04$ і $0,80 \pm 0,03$ мМ ($p \leq 0,05$). Отже, можна вважати, що тривалий вплив (вирощування) іонів металу на клітини *D. desulfuricans* має більш негативний вплив на їх життєздатність та метаболічну активність, ніж інкубація, а, зокрема, на здійснюваний ними процес дисиміляційної сульфатредукції.

Дудич Н., Друль М., Кушкевич І., Гнатуш С.

ВИВЧЕННЯ АКУМУЛЯЦІЇ ІОНІВ КАДМІЮ БАКТЕРІЯМИ *CHLOROBIVM LIMICOLA*
ТА *PELOCHROMATIUM ROSEO-VIRIDAE*

Львівський національний університет імені Івана Франка

бул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

E-mail: Ivan_Kushkevych@ukr.net

Деякі важкі метали у невеликих концентраціях викликають спочатку морфологічні зміни, а потім загибель клітин мікроорганізмів. У високих концентраціях важкі метали діють як загальнопротоплазматичні отрути, викликаючи денатурацію білків і нуклеїнових кислот. У сублетальних концентраціях їх дія може бути більш специфічною, оскільки різні метали є спорідненими до певних активних груп молекул клітин.

Механізми токсичного впливу важких металів зумовлені тим, що вони можуть відігравати роль антиметаболітів, утворювати хелати з важливими метаболітами або каталізувати їх розпад, у результаті чого вони стають недоступними для клітини. Метали можуть заміщувати важливі елементи, що призводить до порушення ферментативної або клітинної функції.

Метою наших досліджень було вивчення акумуляційних властивостей фототрофних бактерій за інкубування в середовищі Ван Ніля, в яке додатково вносили різні концентрації кадмій сульфату (5, 10, 15, 20, 25 мМ).

Для цього культури *Chlorobium limicola* та *Pelochromatium roseo-viridae* відмивали 0,9%-им розчином NaCl та інкубували протягом трьох годин за концентрацій CdSO₄: 5, 10, 15, 20 та 25 мМ. У контроль солі металу не вносили. Після інкубації через першу, другу та третю години відмиті клітини руйнували на ультразвуковому гомогенізаторі УЗДН-2Т при 22 кГц протягом 5 хв при 0°C. Незруйновані клітини та їхні уламки відокремлювали центрифугуванням при 12-15 тис. об/хв при 4°C протягом 30 хв.

Концентрацію акумульованих металів визначали на іонометрі (рН-150М) за допомогою кадмійселективного електрода, використовуючи калібрувальну криву.

За інкубування бактерій *C. limicola* у середовищі з кадмієм поглинання спостерігали лише за концентрації 5 мМ протягом трьох годин. Найбільшу кількість Кадмію ($0,372 \pm 0,066 \cdot 10^{-10}$ ммоль/г клітин) вони акумулювали на другу годину. За концентрації металу 10-25 мМ акумуляції не виявлено.

За впливу CdSO₄ у концентрації 5-10 мМ акумуляція металу бактеріями *Pelochromatium roseo-viridae* зростала протягом трьох годин інкубування, за 15 мМ, навпаки, зменшувалася, а за 20-25 мМ залишалася майже незмінною. Таким чином, максимальне поглинання металу клітинами відмітили на третю годину за впливу 10 мМ кадмій сульфату, яке становило $0,101 \pm 0,012 \cdot 10^{-17}$ ммоль/г клітин.

У результаті наших досліджень встановлено, що найбільшу кількість кадмію акумулюють бактерії *C. limicola*. Бактерії *Pelochromatium roseo-viridae* поглинають даний метал значно менше.

Дуфанець О., Звір Г., Мороз О., Гудзь С.

**ВПЛИВ ЦИНКУ НА РІСТ ТА АКТИВНІСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ ШТАМУ
DESULFOVIBRIO DESULFURICANS YA-11**

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського 4, м. Львів 79005, Україна*

Останнім часом зростає забруднення середовища важкими металами. Вони потрапляють у довкілля з викидами промислових підприємств, при видобуванні та переробці корисних копалин, при спалюванні різноманітних складних речовин. Поруч з великими промисловими підприємствами утворюються зони з підвищеним вмістом свинцю, ртуті, кадмію, нікелю та інших металів. Накопичуючись у ґрунті у високих концентраціях, елементи-забруднювачі здатні змінювати його біологічні властивості, негативно впливати на ґрунтову мікрофлору. Тому дослідження впливу важких металів на мікроорганізми є дуже актуальним.

Маловивченою є роль цинку у метаболізмі сульфатвідновлювальних бактерій. Як відомо, у живих організмах він міститься в активному центрі супероксиддисмутази, алкогольдегідрогенази, альдолази та інших ферментів. Разом з тим відома і токсична дія підвищених концентрацій цього металу на мікроорганізми. Цинк інгібує такі ферменти, як лужна фосфатаза, креатинфосфокіназа, можливо, внаслідок антагоністичного заміщення цинком інших металів.

Тому метою роботи було дослідження впливу різних концентрацій Zn^{2+} на ріст штаму сульфатвідновлювальних бактерій *Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11, виділеного з водойми кар'єру Яворівського сіркового родовища, та активність ферменту супероксиддисмутази.

Попередніми дослідженнями показано, що внесення у середовище Кравцова-Сорокіна Zn^{2+} у концентраціях 0,5–2,5 мМ не приводило до суттєвого пригнічення росту штаму *D. desulfuricans* Ya-11, тому клітини вирощували за анаеробних умов протягом 12 діб за зростаючих концентрацій іонів цинку (2,0–12,0 мМ).

Внесення у середовище культивування штаму *D. desulfuricans* Ya-11 іонів цинку у концентрації 10,0–12,0 мМ спричиняло пригнічення росту культури порівняно з контролем у 1,8–3,3 разів, що, можливо, є наслідком впливу цього металу на енергетичні процеси бактерійних клітин. Встановлено, що активність супероксиддисмутази зростала зі збільшенням концентрації Zn^{2+} у середовищі. На 12 добу росту активність ферменту становила 43,6–77,6 Од/мг білка (контроль: 38,1 Од/мг білка), що у 1,1–2,0 рази перевищує цей показник у клітинах, вирощених у середовищі без металу.

Таким чином, встановлено, що цинк у зростаючих концентраціях пригнічує ріст і стимулює активність супероксиддисмутази у сульфатвідновлювальних бактерій.

Фатихова Н., Ямборко Г.

**ВИЯВЛЕННЯ БАКТЕРІОФАГІВ ЛАКТОБАЦИЛ, ІЗОЛЬОВАНИХ
З РІЗНИХ ЕКОЛОГІЧНИХ НІШ**

*Одеський національний університет імені І.І. Мечникова
вул. Дворянська, 2, м. Одеса, 65026, Україна
E-mail: rector@onu.edu.ua*

Запобігання фаговим інфекціям є важливою проблемою на біотехнологічних виробництвах, де використовуються культури мікроорганізмів. Зокрема, це стосується виробництва ферментованих продуктів та пробіотичних препаратів на основі бактерій роду *Lactobacillus*. Забруднення культури фагом може спричинити зменшення виділення молочної кислоти, гальмування або повне припинення ферментації, зниження якості продукції. Наслідком цього

може стати розвиток залишкової мікробіоти, в тому числі патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, які несуть загрозу здоров'ю людини.

Наявність фагів у лактобацил шлунково-кишкового тракту людини може спричинити дисбактеріоз, діарею, розвиток кишкових інфекцій. Забруднення бактеріофагами вагінальних штамів може призвести до бактерійного вагінозу – пригнічення росту лактобацил та підвищеної кількості анаеробних грамнегативних бактерій, зокрема представників родів *Gardnerella* та *Mycoplasma*, що значно знижує імунітет.

Таким чином, вивчення біології бактеріофагів лактобацил є актуальним для подальшого пошуку боротьби з фаговими інфекціями.

Метою даної роботи було виділення бактеріофагів бактерій роду *Lactobacillus*, з різних екологічних ніш та визначення активності фагових часток щодо чутливих культур.

У процесі досліджень з різних екологічних ніш було виділено 10 штамів лактобацил. Вивчені морфологічні, культуральні, фізіологічні та біохімічні властивості досліджуваних лактобактерій дали змогу встановити їхню видову приналежність, але ідентифікація деяких штамів була ускладненою та потребує додаткових досліджень молекулярно-генетичними методами.

Усі виділені штами лактобацил були індуковані як мітоміцином C, так і УФ випромінюванням. За допомогою методу агарових шарів було виявлено фагову активність, при індукції хімічним мутагеном, яка у вигляді негативних колоній спостерігалась у штамів *L. plantarum* LO1 та *L. fermentum* OL18. Індукція за допомогою фізичного фактору (УФ) виявила лізис культур *L. plantarum* LO1, *Lactobacillus spp.* LV2 та *L. fermentum* OL18 також з високим титром фагу. Титр бактеріофагів у досліджуваних зразках коливався у діапазоні 10^4 – 10^8 бляшкоутворюючих одиниць (БУО/мл).

Враховуючи, що три штами, які проявили фагову активність, були виділені з різних джерел: огіркового розсолу, вагінального секрету і некомерційної простокваші, можна стверджувати, що фагова інфекція є характерною для лактобактерій з різних екологічних ніш, а це свідчить про необхідність моніторингу наявності бактеріофагів як на виробництві, так і у випадках порушення мікробіоти людини. Найбільша кількість активних фагових часток була виявлена у вагінальному штамі *Lactobacillus spp.* LV2, ізольованих від здорової жінки репродуктивного віку. Таким чином, велика увага має бути привернена до вивчення шляхів інфікування бактеріофагами вагінальних та кишкових штамів лактобацил та способів боротьби з цим явищем.

Файдюк Ю., Ус Ю.

СКРИНІНГ ШТАМІВ МІКРОМІЦЕТІВ – ПРОДУЦЕНТІВ ЕНДОГЛЮКАНАЗИ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01033, Україна

E-mail: yosia05@rambler.ru

Щорічно велика кількість рослинної сировини втрачається у вигляді відходів харчової, деревообробної, паперової промисловості та ін., яка може бути використана для отримання біопалива (етанолу) шляхом гідролізу за участю грибних целюлаз. Найважливіша роль у поліферментній системі целюлаз належить ендеоглюканазі, яка характеризується здатністю неупорядковано гідролізувати внутрішні зв'язки в в-глюканах та олігосахаридах.

Метою даної роботи було здійснити скринінг мезофільних мікроміцетів – активних продуцентів позаклітинної ендеоглюканазі, а також підібрати оптимальний целюлозовмісний субстрат серед рослинних відходів для їх культивування.

Для культивування грибів глибинним методом ($t=25\pm 2^\circ\text{C}$, 180 об/хв) використовували середовища Чапека, де єдиним джерелом вуглецю слугували різні рослинні відходи.

Ендеоглюканазну активність визначали віскозиметричним методом за зниженням в'язкості розчину натрієвої солі карбоксиметилцелюлози, що обумовлене продукуванням грибами в культуральну рідину даного ферменту.

Встановлено, що всі досліджені нами 30 штамів 12 видів 6 родів мікроскопічних грибів здатні продукувати ендоглюканазу. Активність ферменту залежить від штаму гриба, типу целюлозовмісного субстрату і терміну культивування. У переважній більшості активність ендоглюканаз при культивуванні мікроміцетів протягом 6 діб була вищою в 1,5 рази, ніж при культивуванні протягом 4 діб.

При культивуванні грибів на середовищі з соломом жити лише 10 штамів проявили високу ендоглюканазну активність (30,0–49%). Найактивнішими були *A. flavipes* КМГ 16, *P. velutinum* КМГ 32 і *P. jensenii* КМГ 29 (ступінь гідролізу близько 48,0%).

На середовищі з лушпинням насіння соняшника високу ендоглюканазну активність мали 36% штамів із усіх досліджених. Найвищий ступінь гідролізу було виявлено лише у *F. oxysporum* КМГ 17 – 50,0%.

При культивуванні грибів на середовищі з очеретом лише 10% із досліджених грибів проявили високу ендоглюканазну активність. Найактивнішим був *A. flavipes* КМГ 16, у якого ступінь гідролізу становив майже 52,0%.

При культивуванні мікроміцетів на середовищі з пшеничними висівками 46,0% досліджених штамів були високоактивними целюлозолітиками. Найактивнішим серед них був *A. flavipes* КМГ 13, ендоглюканазна активність якого становила близько 51,0%.

На середовищі з опалим кленовим листям лише 20,0% штамів грибів проявили високу ендоглюканазну активність. У п'яти штамів грибів ступінь гідролізу коливався у межах 30,0–39,0%.

При культивуванні грибів із листками та стеблами зостери морської виявлена найбільша кількість штамів грибів (60% із усіх досліджених), що проявили високу ендоглюканазну активність. Найактивнішим був *F. oxysporum* КМГ 21 – ступінь гідролізу становив близько 52,0%. Тобто, даний субстрат є найоптимальнішим для культивування грибів з метою отримання ендоглюканаз з високою активністю.

Відібрані нами 5 штамів грибів – активних продуцентів ендоглюканаз: *A. flavipes* штам КМГ 13 і КМГ 16, *F. oxysporum* штам КМГ 17, КМГ 20, КМГ 21 і *Trichoderma* sp. КМГ 5 (ступінь гідролізу 42,0–52,0%) – можуть бути використані для подальших біотехнологічних розробок.

Фігурка О., Фігурка У., Русин І., Новіков В.

УТИЛІЗАЦІЯ НАФТИ ТА СИНТЕЗ БІОПАР ВИДІЛЕНИМИ З НАФТОЗАБРУДНЕНОГО ГРУНТУ АЗОТФІКСУЮЧИМИ ТА ЦЕЛЮЛОЗОРУЙНУЮЧИМИ МІКРООРГАНІЗМАМИ

Національний університет „Львівська політехніка”

вул. С. Бандери, 12, м. Львів, 79013, Україна

E-mail: rib@gala.net

Однією з важливих екологічних проблем сьогодення є очищення природного середовища від забруднень сировою нафтою та нафтопродуктами, які належать до найбільш важкоокиснювальних сполук.

У цьому процесі значну роль відіграють вуглеводеньутилізуючі мікроорганізми, до яких належать мікроорганізми різних фізіологічних груп. Оскільки комплексна мікробіотерапія ґрунтів вважається перспективним методом їх рекультивації, наша увага була привернута до мікроорганізмів, розвиток яких тісно пов'язаний з рослинами, а саме, до целюлозоруйнуючих та азотфіксуючих бактерій.

З нафтозабрудненого ґрунту було виділено мікроорганізми-представники даних фізіологічних груп та показано їх активну участь у процесах біодеструкції нафти. Виділені штамми активно розвивались на середовищах, де єдиним джерелом карбону і енергії була сира нафта. Важливими характеристиками деструкторних штамів є їх здатність розвиватись у широкому діапазоні концентрацій нафти, окиснювати вуглеводні при різних значеннях температури, за короткий час накопичувати біомасу у середовищі з нафтою та синтезувати біосурфактантні комплекси, які збільшують розчинність вуглеводнів у воді й сприяють їх кращому засвоєнню. Тому, нашим завданням було проаналізувати, чи володіють досліджувані мікроорганізми даними властивостями, що забезпечують їх активність в несприятливих умовах нафтового забруднення.

Було показано, що значна частина досліджуваних культур були здатні утилізувати нафту в концентрації 2 – 20%, а деякі з них, зокрема, штами С-3, С-4, С-5, С-11, С-13 характеризувалися активним ростом у середовищі з 10% та 20% нафтою. Було виявлено, що всі штами розвиваються в температурному діапазоні +15 – +30°C, а деякі з них, зокрема, N-24, N-26, N-27, N-28 характеризуються досить швидким накопиченням біомаси в середовищі із сировою нафтою, як єдиним джерелом карбону. Було виявлено продукування біосурфактантів деякими азотфіксуючими та всіма досліджуваними целюлозоруйнуючими вуглеводеньутилізуючими штамми. Так, наприклад, штами С-3, С-3-2 характеризувались утворенням дрібнодисперсної емульсії, індексом емульгування 59% і 49% відповідно, та значеннями поверхневого натягу культуральної рідини 50,6 мН/м і 53,6 мН/м. Штами С-3-2 та С-4-2 відзначилися високим нагромадженням біомаси у середовищі з сировою нафтою. Ріст даних штамів у середовищі з 5% нафтою був вищим в 2,2 та 3,2 рази, ніж у середовищі з 2% сахарозою.

Мікробіологічні методи є найбільш ефективними для очищення довкілля від нафтових забруднень. Вони полягають у додатковому внесенні у відкриті екосистеми активних штамів мікроорганізмів - деструкторів вуглеводнів або біопрепаратів на їх основі, що дозволяє скоротити термін детоксикації та відновлення забрудненого середовища з десятків років до декількох місяців. На основі проведених аналізів для подальших досліджень було відібрано найбільш активні деструкторні штами як перспективні для застосування в комплексі фіторекультиваційних заходів.

Фрич Н.

АНТИМІКРОБНІ ВЛАСТИВОСТІ РОСЛИН РОДИНИ (*ERICACEAE JUSS.*).

Івано-Франківський національний медичний університет

вул. Галицька, 2, м. Івано-Франківськ, 76018, Україна

E-mail: frych@yandex.ru

Проведені фітохімічні і фармакогнозійні дослідження рослин родини вересові свідчать, що вони є багатим джерелом цінних для медицини сполук з різносторонніми фармакологічними властивостями. Загальноvizнаними є антибактерійні властивості мучниці звичайної, проте відомості про спектр її протимікробної активності є неповними. Глобальне поширення штамів, резистентних до сучасних антибіотиків та антисептиків, яке спостерігається в останні роки, порушує закономірне питання про ефективність препаратів мучниці та інших вересових при лікуванні інфекцій, спричинених вищезазначеними штамми інфекцій.

Метою роботи було вивчення протимікробної активності водно-етанольних екстрактів рослин родини *Ericaceae* відносно сучасних поліантибіотикорезистентних штамів умовно-патогенних бактерій. Для дослідження використано 90%, 70% та 40% екстракти 7 лікарських рослин родини вересові, зібраних на території Прикарпаття: вересу звичайного, брусниці, буянів, багна болотного, мучниці звичайної, рододендрону східно-карпатського та чорниці. Дослідження протимікробної активності екстрактів відносно колекційних і клінічних штамів виконували методами дифузії в агар і серійних розведень в агарі.

Найвищим рівнем протистафілокової активності володів 90% екстракт листя мучниці. Достовірне пригнічення росту майже усіх тест-штамів спостерігалось також під впливом екстракту листя рододендрону, хоч діаметри затримки росту були значно меншими. Стосовно ентерококів, як і очікувалось, найбільш активним виявився екстракт мучниці, при дії якого зони затримки росту в середньому дорівнювали $6,61 \pm 0,35$ мм. Слід зауважити, що один штам *Enterococcus faecalis* виявився стійким до дії всіх досліджуваних екстрактів рослин.

90% етанольні екстракти досліджених лікарських рослин виявилися більш активними щодо грамнегативних бактерій. Найбільші зони пригнічення росту грам-негативних бактерій зумовлювали екстракти мучниці та рододендрону. Уваги заслуговує той факт, що 70% та 40% екстракти пригнічували ріст досліджуваних бактерій тільки в тому випадку, коли ця активність спостерігалася в 90% екстрактів.

Результати отримані в результаті серійних розведень в агарі свідчать про те, що порівняно з екстрактами мучниці, менш активними відносно ентеробактерій і псевдомонад є екстракти рододендрону, чорниці та брусниці. Так екстракт брусниці у розведенні 1:8 (1750 мл) зумовлював повне пригнічення росту 55,6% штамів ентеробактерій. Резистентними до нього виявилися 75% штамів клебсієл і псевдомонад. Екстракт рододендрону в аналогічному розведенні неактивний щодо *E. Coli* та *Kl. pneumonia*, але проявив бактеріостатичні властивості щодо *Enterobacter aerogenes* та *Citrobacter diversus*.

Галкін О.

**РОЗРОБКА УДОСКОНАЛЕНОЇ МЕТОДИКИ ОТРИМАННЯ
ФС-ФРАГМЕНТІВ IGG ЛЮДИНИ**

*Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут», кафедра промислової біотехнології
пр. Перемоги, 37, м. Київ, 03056, Україна
E-mail: alexfbt@mail.ru*

На практиці досить часто виникає потреба в одержанні Фс-фрагментів імуноглобулінів. Така необхідність пов'язана з їх широким використанням в імунології та імунохімії. Фс-фрагменти можливо застосовувати для вивчення ефекторних функцій імуноглобулінів, які опосередковані цими областями. Часто їх використовують як імуноген для одержання анти-видового кон'югату (у тому числі на основі моноклональних антитіл) при конструюванні тест-систем, призначених для серологічної діагностики. Слід зазначити, що Фс-фрагмент, як антиген, дає змогу одержати більш специфічні та селективні антивидові імунні сироватки. Отримані при розщепленні імуноглобулінів Фс-фрагменти можливо використовувати також для тестування моноклональних антитіл та одержання імуноафінних колонок.

У літературі зустрічається декілька методик розщеплення імуноглобулінів ферментами з метою отримання Фс-фрагментів. Більшість із них базується на використанні папаїну, лише у деяких застосовується трипсин. Папаїнова фрагментація дозволяє отримати більш стабільні та відтворювані результати. Незважаючи на велику кількість модифікацій методики, значна частина з них погано відтворюється, часто бракує достовірних способів контролю за ферментативним розщепленням. Дані різних авторів у багатьох випадках містять суттєві розбіжності.

Для одержання Фс-фрагментів IgG людини папаїновий гідроліз імуноглобулінів проводили у середовищі азоту, оскільки кисень повітря, за даними Goding, помітно інгібує активність ферменту. Був встановлений оптимум часу ферментативної фрагментації IgG людини, який склав 24 години (після 20-ої години інкубації папаїну та імуноглобулінів у реакційній суміші не зростає кількість Фс- та Fab-фрагментів).

Виділення та очистку Фс-фрагментів здійснювали шляхом послідовного вилучення Fab-фрагментів та негідролізованих імуноглобулінів, для чого використовували більш ефективні методи – афінну хроматографію на протеїні G та гель-фільтрацію на сефадексі G-100.

Контроль чистоти одержаних препаратів імуноглобулінів та Фс-фрагментів здійснювали електрофорезом у ПААГ з ДСН та імунодифузією за Ухтерлоні.

Використання такої схеми дозволило одержати Фс-фрагменти високого ступеню чистоти, придатні для тестування клонів гібридом. Вихід Фс-фрагментів після всіх етапів очистки склав біля 10% від початкової кількості імуноглобулінів у препараті.

Гармашева І., Остапчук А.

ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД БАКТЕРІЙ РОДУ *ENTEROCOCCUS*

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України
вул. академіка Заболотного, 154, Київ МСП 03680, Україна
E-mail: garmoshkina@rambler.ru*

Важливою таксономічною характеристикою багатьох мікроорганізмів є жирнокислотний склад клітинних ліпідів. Однак, вивченню жирних кислот представників роду *Enterococ-*

cis, приділяється мало уваги. Метою роботи було вивчення жирнокислотного складу ентерококів кишкового походження, які тривалий час зберігались у колекції культур молочнокислих бактерій відділу фізіології промислових мікроорганізмів ІМВ НАНУ та оцінка можливості використання даних хемотаксономічних ознак для видової ідентифікації.

У роботі використано 58 штамів ентерококів видів *E. faecium* (26 штамів), *E. durans* (18 штамів), *E. hirae* (9 штамів), *E. faecalis* (2 штами) та 3 штами *Enterococcus* sp. з невизначеною видовою належністю.

Метаноліз бактерійної маси проводили у 1,5% розчині сірчаної кислоти в метанолі протягом 1 год при +80°C. Дослідження складу метилових ефірів жирних кислот проводили на хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973 inert (Agilent Technology, USA). Обробку даних хромато-мас-спектрометричного аналізу проводили за допомогою комп'ютерної програми ChemStation та інтегрованої бази даних мас-спектрів NIST 02, а також стандарту метилових ефірів жирних кислот бактерій (Supelco, № 4708-U, USA). Для статистичної обробки даних використовували комп'ютерну програму Statistika 7.0.

У всіх 58 вивчених штамів виявлені гексадеканова (C16:0), циклопропанова (C19:0cyclo), цис-ізомер октадеценної (cC18:1) та октадеканова (C18:0) кислоти. Домінуючими є гексадеканова (31,97±6,87%), циклопропанова (37,6±7,55%) та цис-ізомер октадеценної кислоти (16,08±6,11%), октадеканова кислота міститься у невеликій кількості (2,65±1,028%).

Тетрадеканова (C14:0) кислота виявлена у 51 з 58 (88%) штамів ентерококів, пентадеканова (C15:0) – у 18 (31%), гексадеценна (C16:1) – у 44 (76%), транс-ізомер октадеценної кислоти (tC18:1) – у 40 (69%) штамів. Зазначені вище кислоти були виявлені серед штамів всіх досліджених видів, за виключенням пентадеканової кислоти, яка відсутня у штамів *E. faecalis*. Таким чином, досліджені штами не виявили видоспецифічної залежності якісного жирнокислотного спектру.

Проаналізовано кількісний вміст жирних кислот штамів ентерококів залежно від виду. Статистично значимою ($p < 0,05$) є різниця вмісту деяких жирних кислот, зокрема цис- та транс-ізомерів октадеценної кислоти (28,12±6,24% та 3,4±0,37% відповідно) у виду *E. faecalis* та видів *E. faecium* – 15,39±1,27% та 1,14±0,19% відповідно, *E. durans* – 15,97±1,42% та 1,28±0,21% відповідно, *E. hirae* – 14,61±1,09% та 1,54±0,43%, у штамів *Enterococcus* sp – 14,11±1,53% та 1,52±0,16% відповідно. Кількість циклопропанової кислоти у штамів *E. faecalis* (26,98±6,49%) є нижчою, порівняно з штамами видів *E. faecium* (38,49±0,82%) та *E. hirae* (39,52±0,83%).

Однак, не дивлячись на певні відмінності у жирнокислотному складі між штамами ентерококів різних видів, кількісний вміст жирних кислот не дає змоги диференціювати досліджені штами за видовою належністю. Таким чином, аналіз жирнокислотного складу клітинних ліпідів бактерій роду *Enterococcus* не дає змогу ідентифікувати штами близькоспоріднених видів, таких як *E. faecium*, *E. hirae* та *E. durans*, внаслідок внутрішньовидової гетерогенності відсоткового складу жирних кислот. У той же час метод може бути корисним при ідентифікації віддалених між собою видів ентерококів.

Гаценко М.

ФОСФАТМОБІЛІЗУЮЧІ БАКТЕРІЇ ЯК ЧИННИК ОПТИМІЗАЦІЇ ФОСФОРНОГО ЖИВЛЕННЯ КУЛЬТУРНИХ РОСЛИН

Інститут сільськогосподарської мікробіології, УААН
вул. Шевченка, 97, м. Чернівці – 27,14027, Україна
E-mail: mgatsenko@ukr.net

На сьогодні у землеробстві України існує проблема фосфорного живлення сільськогосподарських культур, що потребує альтернативних технологій, які б передбачали можливість збагачення ґрунтів доступними формами сполук фосфору. Таким заходом може бути технологія компостування. Її особливості полягають у використанні українських фосфоритів при вермикомпостуванні органіки за участю активних фосфатмобілізуючих мікроорганізмів. При

цьому отриманий компост може бути збагаченим на водорозчинні форми фосфору, і використуватися для покращення фосфорного живлення сільськогосподарських культур.

Метою наших досліджень було виявити склад активних фосфатмобілізуючих мікроорганізмів біогумусу, з'ясувати за участю яких мікроорганізмів при вермикомпостуванні гною ВРХ, збагаченого фосфоритами, можливе зростання вмісту водорозчинних фосфатів та відібрати активні бактерійні штами для подальшої розробки технології компостування гною ВРХ.

Для досягнення поставленої мети вивчено склад фосфатмобілізувальної мікробіоти біогумусу. В угрупованні фосфатмобілізуючих мікроорганізмів домінували представники роду *Pseudomonas*. Виходячи з інтенсивності розчинення ортофосфату у живильному середовищі відібрано активні штами фосфатмобілізуючих бактерій роду *Pseudomonas* sp.

Вплив ізолюваних фосфатмобілізуючих бактерій на ступінь розчинності фосфоритів при вермикомпостуванні органіки, збагаченої фосфоритами, вивчали в умовах модельного експерименту.

Як свідчать одержані результати, внесення бактерійних суспензій до гною ВРХ з фосфоритним борошном забезпечило різний вплив мікроорганізмів на процеси трансформації фосфору. Наприкінці компостування у всіх варіантах відбулося зростання вмісту мінеральних водорозчинних форм фосфору у порівнянні з його початковим вмістом. Інтродукція до компостів штамів мікроорганізмів *Pseudomonas* sp. 17 та 22 сприяла достовірному збільшенню вмісту мінеральних та органічних водорозчинних форми фосфору у порівнянні з контролем (компостування без додавання бактерій). Так, застосування *Pseudomonas* sp. 17 забезпечило зростання на кінцевому етапі компостування водорозчинних форм фосфатів на 39,5 % у порівнянні з контрольним компостом, а штаму *Pseudomonas* sp. 22 – на 34,8 %.

Експериментальні компости перевірено в умовах польового досліді з огірками. Згідно одержаних результатів найкращим є експериментальний компост, одержаний за участю *Pseudomonas* sp. 17. Так, його застосування сприяло збільшенню врожайності огірків на 50 % у порівнянні з контролем (без внесення компосту).

Отже, отримані дані свідчать про те, що у структурі фосфатмобілізуючої мікробіоти вермикомпосту домінують представники роду *Pseudomonas*. У результаті проведення модельного досліді з вермикомпостування органіки, збагаченої фосфоритами, за участю активних фосфатмобілізуючих мікроорганізмів відібрано перспективні штами, які сприяють вивільненню найбільшої кількості водорозчинних форм фосфору у компості. В умовах польового досліді з огірками найкращим виявилось застосування експериментального компосту, одержаного за участю *Pseudomonas* sp. 17.

Відселекціонований штам використовується в дослідженнях з оптимізації технологічних параметрів одержання компосту збагаченого водорозчинними фосфатами.

Гнатюк Т.¹, Буценко Л.²

**ВПЛИВ ЛІПОПОЛІСАХАРИДУ *PSEUDOMONAS. SYRINGAE PV. ATROFACIENS* 4394
НА ПУХЛИНОТВОРЕННЯ, ІНДУКОВАНЕ *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS***

1 – Київський національний університет імені Т.Г. Шевченка

2 – Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України
вул. Заболотного, 154, Київ МСП, Д 03680, Україна

E-mail: morgauza@ukr.net

Бактерійний рак, що спричинюється *Agrobacterium tumefaciens*, одне з найшкідливіших захворювань рослин. Бактерійний рак уражує широке коло сільськогосподарських рослин. Особливо від нього потерпає виноградарство, тому пошук засобів для його запобігання є актуальним.

Метою нашої роботи було вивчення впливу ліпополісахариду (ЛПС) *P. syringae pv. atrofaciens* 4394 на пухлиноутворення, спричинене *A. tumefaciens* на експлантатах картоплі.

Нами встановлено, що оброблення експлантатів розчином ЛПС *P. syringae pv. atrofaciens* 4394 призводить до значного зменшення кількості утворених пухлин. Протипухлинна актив-

ність ЛПС залежить від концентрації його розчину та часу оброблення експлантатів. Більш активним досліджуваний ЛПС є за попереднього оброблення експлантатів картоплі. Він також виявляє протипухлинну активність за одночасного оброблення експлантатів розчином ЛПС та суспензією клітин *A. tumefaciens*. ЛПС *P. syringae* pv. *atropaciens* 4394 є не активним у разі оброблення експлантатів через 24 год після інокуляції *A. tumefaciens*.

Відомо, що *A. tumefaciens* можуть індукувати пухлинний процес лише за умови прикріплення до рослинних клітин в певних сайтах зв'язування. Здатність ЛПС інгібувати пухлиноутворення може бути обумовлено конкуренцією за сайти зв'язування.

Горшкова О., Скоропуд О., Шулякова С., Михайлова Г., Калініченко Є., Авер'янов Г., Гудзенко Т., Кривицька Т., Бобрешова Н., Беляєва Т.

БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ МОРСЬКИХ БАКТЕРІЙ-ДЕСТРУКТОРІВ ВУГЛЕВОДНІВ НАФТИ, ВИДІЛЕНИХ З АКВАТОРІЇ О. ЗМІЙНИЙ

Одеський національний університет імені І.І.Мечникова

Шампанський пров.2, м. Одеса, 65000, Україна

E-mail: tg1@inbox.ru

Острів Зміїний розташований у північно-західній частині акваторії Чорного моря, де залягає четверта частина всіх національних запасів газу і третя частина нафти. Проте, освоєння острова як бази нафтопромислу, може призвести до значного забруднення нафтопродуктами його акваторії. Тому важливим є розробки технології очищення морського середовища від забруднення вуглеводнями нафти.

Гуманний підхід до проблеми захисту водного середовища від нафтового забруднення означає не тільки досягнення швидкого очищаючого ефекту, але і забезпечення тривалої пролонгованої дії щодо відновлення природних біоценозів. Найбільш екологічними способами боротьби з нафтовим забрудненням водного середовища є стимуляція у водоймах природних процесів самоочищення, шляхом інтенсифікації розвитку аборигенних нафтоокиснюючих мікроорганізмів та інтродукції спеціально селекційованих бактерій-деструкторів вуглеводнів нафти.

У зв'язку з цим проводився цілеспрямований відбір і вивчення біологічних властивостей бактерій-деструкторів вуглеводнів нафти, ізольованих з морського середовища – акваторії Чорного моря навколо острова Зміїного.

Всього з морської води було ізольовано 5 культур бактерій-деструкторів вуглеводнів нафти. Після культивування на м'ясопептонному агарі в термостаті при температурі 30 °С протягом 48 годин культури утворювали колонії різні за розміром, кольором, консистенцією. Культура ВЗ₁ утворювала блискучі, слизові колонії діаметром 3 – 4 мм з флюоресціюючим ореолом навколо; ВЗ₂ – зрізові білі непрозорі щільні колонії; ВЗ₃ – дрібні голубуваті блискучі колонії; ВЗ₄ – блискучі білі гладенькі колонії невеликого розміру; ВЗ₅ – флюоресціюючі опуклі колонії, середніх розмірів; ВЗ₆ – дрібні блискучі колонії діаметром 2 – 3 мм.

Для вивчення деструкції вуглеводнів нафти та нафтопродуктів відібраними культурами бактерій використовували сиру нафту (Федорівське родовище) і синтетичне середовище М-9. В результаті досліджень було встановлено, що всі виділені штами здатні руйнувати нафтове забруднення – через 10 діб візуально реєстрували трансформацію, зменшення у розмірах і зникнення нафтової плями з поверхні рідкого поживного середовища.

Важливою умовою використання штамів бактерій-деструкторів нафти є їх конкурентноздатність по відношенню до аборигенних умовно-патогенних і патогенних штамів. Тому було проведено вивчення антагоністичної активності виділених культур бактерій-деструкторів. У результаті досліджень було встановлено, що виділені з морського середовища бактерії володіють антагоністичною активністю до умовно-патогенних і санітарно-показових мікроорганізмів, які забруднюють водне середовище, в тому числі *E. coli*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella aerogenes*.

Робота виконана у рамках НДР ДЗ/300-2008.

Грицишин А., Мороз О., Клим І., Звір Г.

УТВОРЕННЯ СІРКОВОДНЮ СУЛЬФАТВІДНОВЛЮВАЛЬНИМИ БАКТЕРІЯМИ ПРИ РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЯХ ЛАКТАТУ У СЕРЕДОВИЩІ КУЛЬТИВУВАННЯ

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна

E-mail: Anja_rom@ukr.net

Сульфатвідновлювальні бактерії використовують органічні сполуки як донори електронів у процесі дисиміляційної сульфатредукції, що є основним джерелом утворення токсичного для довкілля сірководню.

Завданням роботи було дослідити вплив різних концентрацій лактату у середовищі Крайцова-Сорокіна на утворення сірководню культурами сульфатвідновлювальних бактерій, виділених з водойми кар'єру Яворівського сіркового родовища.

Вивчено вплив лактату при концентраціях: 4 (контроль), 8, 16, 24, 32, та 40 мг/л у середовищі культивування на утворення сірководню клітинами культур *Yav-6*, *Yav-8* та штаму *Desulfovibrio desulfuricans Ya-11*. Концентрація сульфатів у середовищі становила 0,99 г/л (контроль: 0,33 г/л), оскільки при цій концентрації сульфатів на 14 добу росту спостерігали вищий, ніж при інших перевірених концентраціях сульфатів: 1,65; 3,30 г/л, вміст сірководню – $74,2 \pm 0,16$ мг/л (контроль: $62,6 \pm 0,06$ мг/л), утвореного клітинами культури *Yav-8*.

При концентраціях лактату від 16 до 24 мг/л у середовищі культивування спостерігалася стимуляція утворення сірководню клітинами усіх культур. Найбільша кількість сірководню: $88,3 \pm 0,08$ мг/л, (контроль: $74,6 \pm 0,25$ мг/л) виявлена після культивування *Yav-8* впродовж 14 діб у середовищі, яке містило 24 мг/л лактату. Підвищення концентрації лактату до 32 та 40 мг/л у середовищі не сприяло утворенню сірководню клітинами сульфатвідновлювальних бактерій.

Таким чином, зростання концентрації акцептора (сульфатів) та донора електронів (лактату) у середовищі культивування сульфатвідновлювальних бактерій сприяє активізації процесу дисиміляційної сульфатредукції, в результаті чого утворюються підвищені кількості сірководню.

Галайко С., Шеремета М.*, Білінська І., Воробець Н.*

ПРОТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ *TRIBULUS TERRESTRIS*

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського 4, Львів 79005, Україна

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

E-mail: Vasikka5fish@ukr.net

Розробка нових лікарських засобів є актуальним завданням фармакології. В останні роки велику увагу приділяють лікарським засобам з рослинної сировини, які можуть мати хороші лікувальні властивості і, на відміну від штучних хімічних препаратів, їхній негативний вплив на організм людини незначний. Як протимікробні препарати вони привертають увагу тим, що мікроорганізми рідше набувають стійкості до них.

Рослина *Tribulus terrestris* (якірці сланкі) поширена в усіх регіонах планети з теплим кліматом – у південній Європі, Азії, Африці, Північній Австралії. Ростає в сухих степах на півдні України, зокрема, Криму, півдні Росії, Болгарії. Якірці (насіння) здавна застосовують в Індо-Тибетській медицині, у складі комплексу препарату «п'ять коренів», який пропонується при лікуванні ломоти в суглобах, нарівах. Рідкий екстракт підвищує діурез, стимулює секрецію шлункового соку, проявляє антисклеротичну дію завдяки наявності трибоспоніну, який являє собою суму стероїдних глікозидів. Доведено ефективність лікування цією рослиною таких захворювань як безпліддя у чоловіків, імпотенція, простатит, гіпотрофія яєчок, азооспермія та хронічна втома. Водночас немає жодних даних щодо використання екстрактів цієї рослини як протимікробних препаратів.

Метою роботи було дослідити вплив екстрактів *T. terrestris* на мікроорганізми. Використовували рослинну сировину, взятую з ботанічного саду ЛМНУ імені Данила Галицького. Для одержання екстрактів використовували свіжозібрану сировину, а також суху з надземних і підземних частин рослин. Проводили холодну і гарячу екстракцію з допомогою очищеної свіжоперегнаної води, 20% і 70% розчинів етилового спирту. Для дослідження антимікробної дії як тест-культури використали показові мікроорганізми: грамнегативну бактерію *Escherichia coli*, грампозитивні бактерії *Staphylococcus aureus* і *Bacillus subtilis*, а також дріжджі *Candida pseudotropicalis*. Чутливість мікроорганізмів до рослинних екстрактів визначали методом дифузії в агар з використанням скляних циліндриків. Оцінку антимікробної активності здійснювали шляхом вимірювання лінійкою зони затримки росту мікроорганізмів (у мм) навколо циліндриків з екстрактом.

Наші експерименти показали, що тест-культури мікроорганізмів по-різному реагують на витяжки з рослини *T. terrestris*. З досліджених мікроорганізмів найбільш чутливим до екстрактів виявився золотистий стафілокок, який, як відомо, здатний спричиняти до 80 різних захворювань у людини, зокрема, дерматити, уражати слизову оболонку ротової порожнини. Окрім того, штами *S. aureus* є полірезистентними до хіміопрепаратів. Тому, одержані результати свідчать про перспективність використання витяжок з рослини *T. terrestris* як ефективного протистафілококового препарату. Найбільш стійкими виявилися *B. subtilis*, які не прореагували на жоден з екстрактів. Можливо, це пояснюється тим, що ці бактерії є спороутворювальними і стійкими до дії багатьох хімічних агентів. Дріжджі *C. pseudotropicalis* були чутливими практично до всіх екстрактів, одержаних методом гарячого екстрагування.

Було встановлено, що спосіб екстрагування, а також використання різних частин рослини, дають змогу одержати витяжки з різною біологічною дією. Найкращий мікробостатичний ефект чинили водно-спиртові екстракти листків, виготовлені методом гарячого екстрагування.

Отже, одержані результати свідчать про перспективність розробки фармацевтичних препаратів з антимікробною дією на основі рослини *Tribulus terrestris*.

Глодан С., Кузюк Л., Шишка Р., Байляк М.

СТІЙКІСТЬ ДРІЖДЖІВ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*, ВИРОЩЕНИХ У ПРИСУТНОСТІ ПРЕПАРАТІВ РОДІОЛИ РОЖЕВОЇ, ДО ДІЇ ПЕРОКСИДУ ВОДНЮ

Кафедра біохімії, Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника
вул. Шевченка 57, м. Івано-Франківськ, 76025, Україна

E-mail: bayliak@ukr.net

Родіола рожева (*Rhodiola rosea* L.) – багаторічна гірська рослина з адаптогенними властивостями. Препарати, отримані з кореневища *R. rosea*, позитивно впливають на загальний стан організму, мають антиоксидантну, кардіопротекторну, антидепресантну та протипухлинну дії. Показано здатність препаратів родіоли рожевої підвищувати стійкість різних організмів до дії несприятливих зовнішніх чинників, зокрема оксидативного стресу. Більшість експериментів з вивчення адаптогенних властивостей *R. rosea* були зроблені на модельних тваринах, включаючи мишей, круглих черв'яків та комах. У даній роботі нами за мету поставлено оцінити антистресову дію препаратів родіоли рожевої у відношенні до пекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, які широко використовуються як модельний об'єкт для вивчення функціонування захисних систем еукаріотів.

У дослідженнях використовували штам *S. cerevisiae* YPH250 (дикий тип). Клітини культивували при 28°C на шейкері (175 об./хв) в живильному середовищі YPD, в яке додавали 2% водного або 0,5% спиртового препарату з кореневища родіоли рожевої. Спиртові препарати готували на 40%-му етанолі у співвідношенні 1:5 (кореневище: етанол), а водні – у співвідношенні 1:20. Додавання у живильне середовище препаратів *R. rosea* у вказаних вище концентраціях не впливало на ріст культур штаму YPH250. Після досягнення культурою дріжджів середини експоненційної фази росту клітини осаджували та ресуспендували в 50 мМ

калій-фосфатному буфері (рН 7,0). Отримані суспензії клітин обробляли H_2O_2 різних концентрацій протягом 1 год при 28°C . Після інкубування визначали життєздатність клітин (за кількістю колонієутворюючих одиниць) та активність у клітинах антиоксидантних ферментів – каталази та супероксиддисмутази.

Виживання клітин *S. cerevisiae* зменшувалося зі збільшенням концентрації H_2O_2 . Клітини, вирощені у присутності препаратів *R. rosea* (спиртових і водних), виявилися чутливішими до дії перексиду водню, порівняно з клітинами контрольних культур (які вирощувалися без препаратів родіюли). Так, виживання клітин з контрольних культур незначно змінювалося за дії 0,5 мМ H_2O_2 , у той же час кількість життєздатних клітин, вирощених у присутності препаратів родіюли рожевої, після оброблення 0,5 мМ H_2O_2 знижувалась на 22%. Після оброблення 10,0 мМ H_2O_2 залишалось життєздатними близько 55 і 11% клітин, вирощених без та за присутності препаратів *R. rosea* відповідно.

Активність каталази в клітинах штаму YPH250, вирощених у присутності водних препаратів родіюли рожевої, не відрізнялася, а активність СОД була нижчою, ніж в клітинах з контрольних культур. Інкубування з 0,5 мМ H_2O_2 призводило до зростання активності каталази і СОД у клітинах з контрольних культур і не впливало на активності цих ферментів у клітинах, які росли у присутності водних препаратів. Вищі концентрації H_2O_2 призводили до поступового зниження активності каталази і СОД у клітинах дріжджів, проте ступінь зниження активності ферментів був більшим у клітинах, які вирощували за присутності водних препаратів *R. rosea*. У клітинах, які росли в середовищі зі спиртовими препаратами родіюли рожевої, активність каталази була нижчою, а активність СОД вищою, ніж відповідні показники в клітин контрольної групи. Дія H_2O_2 різних концентрацій призводила до поступового зниження активностей каталази і СОД у клітинах цих культур, подібно до того, як це спостерігалось для клітин, які росли у присутності водних препаратів *R. rosea*.

Таким чином, при додаванні у живильне середовище препаратів *R. rosea*, стійкість дріжджів *S. cerevisiae* в експоненційній фазі росту до індукованого перексидом водню стресу знижується. Підвищена чутливість клітин до перексиду водню за цих умов може бути почасти зумовлена нижчою вихідною активністю антиоксидантних ферментів – каталази і СОД або вищим ступенем їх інактивації під дією H_2O_2 .

Головчак Х., Галушка А., Гудзь С.

ВИЖИВАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ ЗА НАЯВНОСТІ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

E-mail: a_halushka@mail.ru

Досліджено виживання бактерій *Bacillus subtilis*, *Desulfovibrio desulfuricans* і *Escherichia coli*, а також дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* та *Pichia guilliermondii* під впливом гідроген сульфід. Найбільш стійкими до гідроген сульфід у виявилися дріжджі *P. guilliermondii*. Загибель 50% клітин цих мікроорганізмів спричиняє гідроген сульфід концентрацією 125 мМ протягом 23 хв.

Більша чутливість до гідроген сульфід виявлена у бактерій *B. subtilis*. При дії гідроген сульфід концентрацією 156 мМ протягом 15 хв виживало 39% клітин. Гідроген сульфід концентрацією 94 мМ спричиняв загибель 98% клітин, а гідроген сульфід концентрацією 31 мМ – 72% клітин протягом 60 хв. LD_{50} та LD_{90} сполуки для *B. subtilis* становить 16 і 39 хвилин, відповідно, при концентрації гідроген сульфід 94 мМ.

Дещо чутливішими виявилися дріжджі *S. cerevisiae*, бактерії *E. coli* виявляли ще меншу стійкість.

Бактерії *D. desulfuricans* – природні продуценти H_2S – виявилися найбільш чутливими серед усіх досліджених організмів до цієї сполуки. За концентрації 94 мМ відбувалася загибель всіх клітин протягом 15 хв інкубації. При концентрації 31 мМ і часі оброблення 30 хв показник виживання становив 46%.

Жукова Д., Дольова Л., Ямборко Н.
ГЕНЕТИЧНА АКТИВНІСТЬ ПРОДУКТІВ МІКРОБНОЇ
ДЕСТРУКЦІЇ ГХЦГ В ТЕСТІ ЕЙМСА

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України
вул. Акад. Заболотного, 154, Київ – 143, 03143, Україна
e-mail: ceno@serv.imv.kiev.ua

Одним із поширених хлорорганічних пестицидів є інсектицид широкого спектру дії – гексахлорциклогексан (ГХЦГ). Він є стійким до деградації і може зберігатися в ґрунті десятиріччями. Основним діючим інсектицидним компонентом є γ -ізомер, відомий під промисловою назвою ліндан, його частка у препараті становить 8-15%. Всі ізомери не однаково піддаються мікробній деградації. Відносна стійкість деяких з них зумовлена різною орієнтацією атомів хлору у молекулі ГХЦГ.

У відділі загальної і ґрунтової мікробіології Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного була виділена із ґрунтів місць локального забруднення хлорорганічними пестицидами у Львівській і Черкаській областях стійка до токсичної дії пестицидів мікробна асоціація з робочою назвою Мікрос. З цієї асоціації було виділено 11 стійких штамів мікроорганізмів деструкторів ГХЦГ і встановлено, що ізоляти №№ 1, 2, 3, 4, 4а, 5, 7, 7а, 8, 9, 9а належать до виду *Pseudomonas putida* бровар А, ізолят №6 - *Pseudomonas fluorescens* бровар V. Всі виділені культури могли розкладати ізомери ГХЦГ: α -, β -, γ -, і δ . Крім того, досліджували деструкційні властивості *Bacillus megaterium* 5 і асоціації Мікрос.

Токсичні і генотоксичні пестициди, а також продукти їхньої деградації накопичуються як в ґрунті, так і в рослинній продукції. Часто продукти деградації пестицидів перевищують за генетичною активністю вихідні сполуки. Тому важливо вивчити генетичну активність як самих пестицидів, так і проміжних продуктів їх деградації. Згідно літературних даних, фактично всі генетично небезпечні речовини можна виявити за допомогою простих і швидких скринінгових тест-систем, в яких мікроорганізми використовуються як індикатор мутагенності.

Тому, метою нашого дослідження було вивчення генетичної активності продуктів мікробної деструкції ізомерів ГХЦГ у культуральних рідин ефективних штамів-деструкторів *Pseudomonas putida* і *Pseudomonas fluorescens* для культур *Salmonella typhimurium* TA100 і TA в тесті Еймса.

Як стандартні мутагени були взяті $K_2Cr_2O_7$ (100 мкг/мл) N-нітро-N-нітрозогуанідин (3 мкг/чашку), а також варіант із пестицидом без застосування мікробної деструкції. Так, гексахлоран (суміш ізомерів ГХЦГ) у концентрації 20 мкг/мл викликав на 57% у *S. typhimurium* TA 100, на 34% - у *S. typhimurium* TA 98 більше гістидинових ревертантів за їх спонтанний рівень у контролі. Це дозволяє віднести досліджувану концентрацію препарату до слабких мутагенів (за Дуганом О. М.). Результати дослідження мутагенної активності суміші залишкових кількостей ГХЦГ і проміжних продуктів його деструкції показали, що максимальною частотою мутацій у штаму *S. typhimurium* TA 100 була у варіантах з культуральними рідинami *P. putida* 9 – 39%, *P. putida* 3 – 34%, *B. megaterium* 5 – 31%, штамми *P. putida* 1 і *P. putida* 4 – 27%. Решта культуральних рідин викликали мутації з частотою 7-15% від спонтанного контролю. У штаму *S. typhimurium* TA 98 максимальну частоту мутацій викликали культуральні рідини *P. putida* 1 – 160% і *P. putida* 9 – на 31%, мутагенний ефект інших культуральних рідин становив 4,3-12%. Отже, частота появи індукованих мутацій у *S. typhimurium* TA 100 в результаті деструкції знизилась у порівнянні із ГХЦГ без деструкції на 23% і більше, а у *S. typhimurium* TA 98 – зросла у варіантах з *P. putida* 1 і *P. putida* 9, що свідчить про вищу генетичну активність продуктів деструкції у порівнянні із вихідними речовинами.

Іванушкіна Г., Пирог Т.

**РЕОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ МІКРОБНОГО ПОЛІСАХАРИДУ ЕТАПОЛАНУ,
СИНТЕЗОВАНОГО НА СУМІШІ ЕНЕРГЕТИЧНО ДЕФІЦИТНИХ СУБСТРАТІВ**

Національний університет харчових технологій

вул Володимирська, 68, м. Київ, 01033, Україна

E-mail: tapirog@usuft.kiev.ua

У попередніх дослідженнях нами було показано можливість інтенсифікації синтезу мікробного екзополісахариду (ЕПС) етаполану у процесі культивування *Acinetobacter* sp. IMB B-7005 на суміші енергетично дефіцитних (ацетат + м'яса) ростових субстратів. Відомо, що умови культивування продуцента впливають не тільки на синтез ЕПС, а й на фізико-хімічні властивості кінцевого продукту. У різних умовах культивування може змінюватися хімічний склад ЕПС, його молекулярна маса, співвідношення декількох полісахаридів, що впливає на реологічні властивості ЕПС, які визначають практичну значущість цих полімерів. Тому важливою і необхідною умовою розробки біотехнологій мікробних ЕПС є стабільність фізико-хімічних властивостей полісахаридів, а також можливість регуляції властивостей полімерів залежно від області їх практичного використання.

У зв'язку з цим метою даної роботи було дослідження реологічних властивостей полісахариду етаполану, синтезованого на суміші ацетату і м'яса. Раніше було встановлено, що етаполан складається з ацильованого (містить C₁₀-C₁₈-жирні кислоти) і неацильованого компонентів, ідентичних за моносахаридним складом, вмістом глюкуронової і піровиноградної кислот. Завдяки наявності жирних кислот розчинам етаполану притаманна здатність до емульгування, підвищення в'язкості у присутності катіонів, за низьких значень рН, у системі Cu²⁺-гліцин, що зумовлює практичне використання цього ЕПС у нафтовидобувній, хімічній, харчовій промисловості, сільському господарстві.

Для порівняння реологічних властивостей етаполану з найвідомішим у світі мікробним полісахаридом ксантаном аналізували динамічну в'язкість розчинів обох ЕПС у 1% розчині KCl. Саме цей показник використовується виробниками ксантану для його сертифікації. Встановлено, що динамічна в'язкість розчинів етаполану, синтезованого як на суміші етанолу і глюкози, так і на суміші ацетату і м'яса, є вищою, ніж в'язкість розчину ксантану. Звертає на себе увагу той факт, що в'язкість 0,5 % розчину етаполану, утвореного на середовищі з ацетатом і м'ясою за умови підтримання рН на рівні 7,5 у процесі культивування, є практично такою, як і в'язкість 1 % розчину ксантану (1200 і 1500 МПа·с відповідно). Встановлено, що нагрівання 0,5 % розчинів етаполану до температури 130 °C з наступним охолодженням до 20 °C супроводжується підвищенням їх динамічної в'язкості у три рази. Слід зазначити, що за таких умов в'язкість розчинів ксантану знижується, тобто етаполан є термостійкішим порівняно з ксантаном.

Таким чином, у результаті проведеної роботи встановлено, що реологічні показники розчинів етаполану, синтезованого в умовах міксотрофного росту *Acinetobacter* sp. IMB B-7005 на середовищі мінімального складу з дешевими джерелами вуглецю і енергії (ацетат+м'яса) є вищими, ніж аналогічних розчинів ксантану.

Юркевич А., Федорович Д.

**ДОСЛІДЖЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ ШТАМУ ДРІЖДЖІВ *RIB89 PICHIA GUILLIERMONDII*,
НЕЗДАТНОГО ДО НАДСИНТЕЗУ РИБОФЛАВІНУ**

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул.Грушевського 4, м.Львів, 79005, Україна

Інститут біології клітини НАН України м. Львів, вул.Драгоманова, 14/16, 79005

E-mail: annaurk.meta.ua

Pichia guilliermondii належить до групи дріжджів, здатних до надсинтезу рибофлавіну (РФ) за умов дефіциту заліза, а також в присутності іонів кобальту або хромату. Показано,

що в регуляції біосинтезу РФ у цього виду дріжджів беруть участь щонайменше 9 регуляторних генів негативного типу дії (*RIB80*, *RIB81*, *HIT1*, *RED1-RED6*) та 3 гени позитивного типу дії (*RIB83*, *RIB84*, *SEF1*). Пошкодження генів негативного типу дії зумовлює надсинтез РФ при оптимальному для росту вмісті заліза в середовищі, а пошкодження генів позитивного типу дії призводить до втрати здатності до надсинтезу цього вітаміну за умов дефіциту заліза, а також за наявності в середовищі іонів Cr(VI) або Co(II).

Серед селекціонованих хроматорезистентних мутантів дріжджів *P. guilliermondii* виявлено штам, позначений *rib89*, нездатний до надсинтезу РФ у залізодефіцитному середовищі та в присутності Cr(VI) (0,5 мМ). На основі цих даних висунуто припущення, що мутація *rib89* спричиняє пошкодження ще одного гену позитивного типу дії. Встановлено, що мутація *rib89* є рецесивною, моногенною і не є алельною мутаціям *rib83* і *rib84*. До цього часу не з'ясовано, яким чином пов'язані між собою нездатність до надсинтезу РФ та резистентність до хромату у мутанта *rib89*. Завданням нашої роботи було порівняти властивості описаних *rib83* і *Δsef1* мутантів *P. guilliermondii* та мутанта *rib89*, визначити як взаємодіє мутація *rib89* з іншими мутаціями, які викликають пошкодження регуляції біосинтезу РФ у дріжджів *P. guilliermondii*.

Встановлено, що на відміну від штаму дикого типу мутант *rib89*, так само як мутанти *rib83* і *Δsef1* не здатний до надсинтезу РФ у залізодефіцитному середовищі (0,18 μМ Fe), а також в середовищах з високим вмістом заліза (3,6 μМ Fe), що містять іони кобальту (0,9 мМ) або хромату (0,5 мМ). За фериредуктазною активністю та вмістом заліза в клітинах мутант *rib89* не відрізняється від батьківського штаму L2, проте здатний акумулювати підвищені кількості хрому в клітинах. Досліджено вплив іонів металів (Cr(III), Co(II), Cd(II), Cu(II), Mn(II), Zn(II), Se(VI)) на ріст і флавіногенез мутантів *rib89*, *rib83* та штаму з делетованим геном *SEF1 P. guilliermondii*. Мутація *rib89* спричиняє резистентність не тільки до хромату, а й до Cr(III), Cu(II), Se(VI), Mn(II).

Комплементацийний аналіз показав, що мутація *rib89* не є алельною мутаціям *rib83* і *rib84*. Отримано диплоїди *rib89* x *rib80* та *rib89* x *rib81*, в яких індукували мейоз і виділяли ауксотрофні сегреганти, що містять обидві мутації *rib89 rib80* або *rib89 x rib81*. Наявність мутацій перевіряли шляхом схрещування з тестерними штамми (*rib89*, *rib80* та *rib81*). Штами, що містили обидві мутації повністю не втратили здатності до надсинтезу РФ в середовищі, що містило іони кобальту, що свідчить про те, що на відміну від *rib83* мутації, мутація *rib89* не епістатує над мутаціями *rib80* і *rib81*.

**Калініченко Є., Горшкова О., Скоропуд О., Шулякова С., Михайлова Г.,
Гудзенко Т., Кривицька Т., Бобрешова Н., Беляєва Т.**

**ДЕСТРУКТИВНА АКТИВНІСТЬ ВУГЛЕВОДНЕОКИСНЮЮЧИХ БАКТЕРІЙ,
ВИДІЛЕНИХ З ҐРУНТУ О. ЗМІЇНИЙ**

Одеський національний університет імені І.І.Мечникова

Шампанський пров.2, м.Одеса, 65000, Україна

E-mail: tg1@inbox.ru

В умовах розвитку інфраструктури та обмеженого антропогенного впливу на острові Зміїному надзвичайно важливим є захист від нафтового забруднення навколишнього середовища, у тому числі ґрунту.

Мікроорганізми – це імунна система природних біоценозів, яка забезпечує їх резистентність до антропогенного забруднення. Мікроорганізмам належить головна роль у ліквідації нафтового забруднення ґрунту у природних умовах.

Забруднення ґрунту вуглеводнями нафти в значній мірі впливає на рівновагу мікробного ценозу як біологічної системи. Мікроорганізми використовують вуглеводні нафти в процесі енергетичного та конструктивного метаболізму.

Вони здатні засвоювати всі наявні у природі органічні речовини, причому необхідні ферменти синтезуються в їхніх клітинах. Для ґрунтів, що містять нафтопродукти, характерна

наявність вузькоспеціалізованих форм мікроорганізмів: що окиснюють газоподібні вуглеводні, засвоюють тверді парафіни, ароматичні вуглеводні і т.п.

Метою роботи було вивчення деструктивної активності бактерій, ізольованих з забруднених нафтопродуктами ґрунтів о. Зміїний.

З метою ізоляції бактерій-деструкторів вуглеводнів нафти із забруднених ділянок о. Зміїного було відібрано 9 проб ґрунту зі свіжим і старим забрудненням нафтопродуктами. Зразки відбирали у кількості 500 г шпателем, протертим спиртом. Для ізоляції із забруднених нафтопродуктами ґрунтів біохімічно-активних бактерій-деструкторів вуглеводнів нафти використовували рідке синтетичне середовище МКД.

Нафту і дизельне паливо (субстрати) стерилізували і додавали в концентрації 1 % безпосередньо в пробірки з МКД. Культивування посівів проводили при кімнатній температурі (22 °С) протягом семи діб. На сьому добу в пробірках визначали наявність росту бактеріальної біомаси у порівнянні з контрольними пробірками.

До ознак росту гетеротрофних сапрофітних бактерій, що використовують як єдине джерело вуглецю й енергії нафту або дизельне паливо, відносили: руйнування шару субстрату і зміну прозорості або кольору середовища, появу бактеріальних плівок під нижнім шаром нафти, утворення пластівців у товщі середовища.

Зі забрудненого нафтопродуктами ґрунту о. Зміїного було ізольовано чотирнадцять культур бактерій. Для встановлення їхньої деструктивної активності по відношенню до вуглеводнів нафти було здійснено посів на рідке поживне середовище МКД, що містило нафту або дизельне паливо.

В результаті досліджень встановлено, що з чотирнадцяти культур бактерій деструктивними властивостями по відношенню до вуглеводнів нафти володіють сім (Pc1₁, Pc1₂, Pc1₃, Px2₁, Px2₂, Px2₃, Px2₄).

Найбільш активним деструктором вуглеводнів нафти був штам Pc1₃. Вже через 2–4 доби в присутності у поживному середовищі вуглеводнів нафти він давав добрий приріст біомаси, при цьому реєструвалася виражена деструктивна активність – дезагрегація нафтової плівки, а через 10 діб – майже повне її руйнування.

Руйнування шару нафти на поверхні рідкого середовища супроводжувалося приростом біомаси бактерій-деструкторів, при цьому реєструвалася поява бактеріальних плівок під нижнім шаром нафти, збільшення оптичної щільності середовища, утворення пластівців у товщі середовища.

Робота виконана у рамках НДР ЗМ/323-2008.

Кашуба Я., Романова К., Ямборко Н.

ДЕГРАДАЦІЯ ПЕСТИЦИДУ ГЕКСАХЛОЦИКЛОГЕКСАНУ МІКРООРГАНІЗМАМИ-ДЕСТРУКТОРАМИ У РІДКОМУ СЕРЕДОВИЩІ

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

вул. Акад. Заболотного 154, Київ – 143, 03143, Україна

E-mail: ceno2@serv.imv.kiev.ua; by-palada@yandex.ru

Очищення ґрунтів від пестицидів з використанням мікроорганізмів-деструкторів набуває все більшої актуальності. Одним із поширених у практиці рослинництва інсектицидів є гексахлорциклогексан (ГХЦГ). Цей інсектицид є сумішшю чотирьох оптичних ізомерів α -, β -, γ -, і δ . Основною діючою речовиною ГХЦГ є γ -ізомер – ліндан.

У відділі загальної і ґрунтової мікробіології Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного була виділена із ґрунтів місць локального забруднення хлорорганічними пестицидами у Львівській і Черкаській областях стійка до токсичної дії пестицидів мікробна асоціація з робочою назвою Мікрос. З асоціації Мікрос було виділено 11 стійких штамів мікроорганізмів-деструкторів ГХЦГ і визначено, що ізоляти №№ 1, 2, 3, 4, 4а, 5, 7, 7а, 8, 9, 9а належать до виду *Pseudomonas putida* біовар А, ізолят №6 – *Pseudomonas fluorescens* біовар V. Всі виділені куль-

тури володіли здатністю розкласти ізомери ГХЦГ: α -, β -, γ - і δ . Крім того, досліджували деструкційні властивості *Bacillus megaterium* IMB B-7168 і асоціації Мікрос.

Швидкість деградації ГХЦГ залежить від активності мікроорганізмів та їх здатності до деструкції його оптичних ізомерів. Дослідження активності мікроорганізмів деструкторів дозволяє підібрати потрібну концентрацію мікроорганізмів для ефективної боротьби з забрудненістю ґрунтів.

Тому метою нашого дослідження було визначення залишкових кількостей ізомерів ГХЦГ в культуральній рідині у результаті деструкції їх штамами роду *Pseudomonas sp.*, що виділені з асоціації Мікрос, *Bacillus megaterium* IMB B-7168 та власне асоціації Мікрос для відбору найбільш перспективних культур-деструкторів.

Для оцінки деструкції ГХЦГ досліджувані штами й асоціацію Мікрос засівали у рідке модифіковане середовище Менкіної. У середовище додавали препарат гексахлоран у кількості 20 мкг/мл із вмістом 7% суміші ізомерів ГХЦГ, що відповідає дозі 2 рекомендованим дозам.

Культури вирощували на ротаційній качалці протягом 10 діб. Для визначення залишкової кількості пестицидів використовували загальновідому методику.

γ -Ізомер ГХЦГ найкраще розкладали *Pseudomonas sp.* 3 – на 67,4%; *Pseudomonas sp.* 5 – на 64,2%; *Pseudomonas sp.* 7 – на 61,4%, асоціація Мікрос – на 66,2%. α – ГХЦГ найкраще розкладали штам *Pseudomonas sp.* 3 – на 69,2%, а також *Pseudomonas sp.* №5 і 7 – на 63,3-64%. δ - ГХЦГ найкраще розкладав *Pseudomonas sp.* 3 – на 78,3%.

Високу деструкційну активність спостерігали у *B. megaterium* IMB B-7168: α - ГХЦГ - на 75,1%, β - ГХЦГ – на 63,4%, γ - ГХЦГ – на 80,6%, δ - ГХЦГ - на 86,7%.

β -ГХЦГ розкладали *Pseudomonas sp.* 3 – на 46,3% і асоціація Мікрос – на 47,2%.

Отже, всі досліджені штами розкладали ізомери ГХЦГ. Ефективним деструктором виявилась і культура *B. megaterium* IMB B-7168.

Комок М., Волкова І.

ІНТРОДУКЦІЯ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* М 8 В АГРОЦЕНОЗИ ЗА ДІЇ РІЗНИХ ФОРМ МІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ

Інститут сільськогосподарської мікробіології УААН

вул. Шевченка 97, м. Чернігів, 14027, Україна

E-mail: tax_kotok@mail.ru

Як відомо, бобові рослини здатні вступати в симбіоз з бульбочковими бактеріями (ризобіями), що забезпечує високий рівень біологічної фіксації атмосферного азоту. Серед зернобобових культур, здатних формувати високоефективні азотофіксуючі симбіози, є соя.

Збільшити продуктивність азотфіксації соєво-ризобіального симбіозу можна шляхом інтродукції ефективних штамів бульбочкових бактерій в агроценози України. З цією метою проводять бактеризацію насіння або ґрунту за використання мікробних препаратів. Крім традиційних препаратів – ризоторфіну, ризобіфіту, в Україні розпочато використання нових препаратів комплексної дії ризогуміну і біограну, які крім мікробного компоненту містять фізіологічно активні речовини біологічного походження.

Метою нашої роботи було вивчити вплив різних мікробних препаратів (ризоторфіну, ризогуміну та біограну) на інтродукцію виробничого штаму *Bradyrhizobium japonicum* М 8 в агроценози за наявності та відсутності популяцій бульбочкових бактерій сої у ґрунті. Для одного з двох дослідів створювали умови щільної популяції «місцевих» бульбочкових бактерій, для чого за рік до проведення досліджень вирощували сою, бактеризовану штамом *Bradyrhizobium japonicum* 6346. Останній є серологічно відмінним від *Bradyrhizobium japonicum* М 8, що дозволило використати серологічне тестування для визначення частки бульбочок, утворених штамом-інокулянтом.

У досліді за умов щільної популяції «місцевих» ризобій спостерігали достовірне збільшення кількості та маси кореневих бульбочок на корінні рослин усіх варіантів із застосуван-

ням досліджуваних біопрепаратів. Найбільшу кількість бульбочок забезпечували препарати комплексної дії ризогумін і біогран: у 1,6 і 1,5 рази більше порівняно з контролем без бактеризації. При дослідженні дії препаратів на конкурентоспроможність штаму встановлено, що жоден з них не забезпечував домінування бульбочок, сформованих за участю інтродукованого штаму. Найбільшу кількість таких бульбочок – 22,37% спостерігали у варіанті із застосуванням ризогуміну. Разом з тим, передпосівна бактеризація суттєво впливає на нодуляційну здатність рослин сої, що свідчить також і про опосередкований вплив препаратів на цей процес. За відсутності аборигенних популяцій бульбочкових бактерій сої у рослин контрольного варіанту кореневі бульбочки були відсутні, при цьому всі біопрепарати сприяли утворенню достатньої кількості бульбочок.

Встановлено позитивний вплив комплексних біопрепаратів на активність азотфіксації соєво-бобового симбіозу за наявності щільної популяції ризобій сої. За відсутності у ґрунті бульбочкових бактерій сої всі біопрепарати забезпечували високу активність азотфіксації симбіозу. Проведені дослідження свідчать про збільшення приросту надземної маси рослин сої і маси коріння у всіх варіантах, як за умов щільної популяції ризобій сої, так і за їх відсутності. В обох дослідках застосування ризогуміну забезпечувало значний приріст хлорофілу *a* в листках рослин сої.

Вивчення продуктивності сої сорту *Устя* в умовах щільної популяції ризобій у ґрунті свідчить про позитивну дію лише одного – ризогуміну. Урожайність зерна сої при цьому зросла на 6,2 ц/га. Продуктивність сої за відсутності популяції ризобій у ґрунті свідчить про позитивну дію всіх досліджених препаратів. Бактеризація забезпечила прирости урожаю від 65 до 79% відносно контролю.

Отже, на полях, де раніше сою не вирощували, можна використовувати широкий спектр мікробних препаратів; у місцях традиційного вирощування цієї культури рекомендується застосовувати новий біопрепарат комплексної дії ризогумін.

Коренєва А.

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ НА ЯКІСТЬ СИРОВИНИ *ECHINACEA PURPUREA*

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

вул. Володимирська, 64, м. Київ, 03001, Україна

E-mail: korenevochka@mail.ru

Вірусні захворювання є серйозною проблемою у вирощуванні лікарських рослин, так як є причиною значних змін вмісту та складу біологічно активних речовин, що в кінцевому результаті призводить до погіршення якості сировини. Задля підвищення якості фітопрепаратів, від якої безпосередньо залежить здоров'я населення, необхідним є контроль вмісту в них біологічно активних речовин. Тому великий інтерес представляє дослідження впливу вірусної інфекції на якість лікарської сировини. Метою роботи було провести обстеження плантацій ехінацеї пурпурової на наявність вірусів, вивчити їх властивості та встановити вплив на якість лікарської сировини.

На плантаціях України виявлено рослини *Echinacea purpurea* з симптомами вірусного ураження. Характерними на ехінацеї були: мозаїки, деформація листової пластинки та затримка росту рослин.

З рослин ехінацеї виділено сферичний вірус розміром $29,5 \pm 0,5$ нм. Для вивчення його біологічних властивостей застосовували метод біотестування. При інокуляції вірусом ехінацеї на рослинах *Chenopodium quinoa* утворювалися локальні некрози світло-коричневого кольору з темно-коричневим ореолом розмірами 1–2 мм у кількості 20–50 шт. на 1 листок.

Вірусний препарат з ехінацеї пурпурової характеризувався концентрацією в рослинах 2 мг/мл, коефіцієнт $E_{260/280}$ якого становив 1,29. Методом електрофорезу білків у поліакриламідному гелі, встановлено, що структурний білок вірусу ехінацеї пурпурової має молекулярну

масу $26 \pm 0,5$ кДа. Використовуючи метод тестування на наявність рибози і дезоксирибози, визначали тип та кількість фракцій вірусних нуклеїнових кислот. Показано, що геном вірусу ехінацеї являє собою одноланцюгову РНК. Методом ІФА у рослинах ехінацеї пурпурової детектовано вірус огіркової мозаїки (ВОМ). Ці дані узгоджуються з літературними даними та отриманими нами результатами в ході біотестування, спектрофотометричних досліджень та аналізу нуклеїнової кислоти. Деяку розбіжність з літературними даними (Тахопому, 2006) щодо молекулярної маси білка (24 кДа), пояснює той факт, що білки окремих штамів ВОМ мають іншу рухливість в поліакриламідному гелі.

Головними показниками якості та стандартизації лікарської сировини з рослин ехінацеї пурпурової є похідні гідроксикоричних кислот (ГОКК), із них основним компонентом є цикорієва кислота. Тому визнали вплив ВОМ на кількісний вміст похідних ГОКК у перерахунку на цикорієву кислоту. В результаті досліджень встановлено, що у рослинах ехінацеї пурпурової, інфікованих ВОМ, міститься 2,3% ГОКК, тоді як у контролі цей показник вищий – 2,7%, тобто вірусна інфекція знижує якість лікарської сировини.

Крім ГОКК, фармакологічно цінним компонентом ехінацеї є полісахариди, активність яких пов'язують з імуностимулюючими властивостями цієї культури. Наші дані показали, що кількість полісахаридів у рослинах, уражених ВОМ, становила 5,6 %, що на 2 % нижче порівняно з контролем (7,6%). Відомо, що рослинна сировина ехінацеї, яка містить менше 7% полісахаридів, не відповідає стандарту і не може бути використана у фармацевтичній промисловості.

Отже, наші дослідження показали, що вірусна інфекція, спричинена ВОМ, представляє реальну загрозу для якості сировини ехінацеї пурпурової, так як знижує вміст біологічно активних речовин (полісахариди та гідроксикоричні кислоти), завдяки яким рослини проявляють свою терапевтичну дію.

Корзюков Є., Горшкова О., Михайлова Г., Калініченко Є., Гудзенко Т., Тіхенко Н.

**ЗНАЧЕННЯ ІКСОДОВИХ КЛІЩІВ ПТАХІВ, ЩО МІГРУЮТЬ ЧЕРЕЗ О.ЗМІНИЙ,
У ПЕРЕНЕСЕННІ АРБОВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ В УКРАЇНУ**

Одеський національний університет імені І.І.Мечникова

Шампанський пров.2, м. Одеса, 65000, Україна

E-mail: tg1@inbox.ru

Птахи – небесні мандрівники, що мігрують через острів Зміїний, можуть приносити не тільки весну, але і паразитів, з якими вони зустрілися під час зимівлі в теплих краях. Останні є резервуарами для мікроорганізмів-збудників інфекційних захворювань людини і тварин, транспортерами, переносниками і годувальниками ектопаразитів, що, у свою чергу, можуть містити патогенні мікроорганізми.

У період міграцій може відбуватися поширення популяцій збудників серед птахів. Ряд видів птахів відноситься до числа синантропних. Це створює передумови для замету збудників у синантропні біоценози і розвитку епідемічних спалахів захворювань людини і тварин. Екологічно зв'язані з птахами арбовіруси (від лат. *artropoda*, членистоногі, + англ. *borne*), що передаються через укуси кровосисних членистоногих-переносників.

На Україні найбільш розповсюдженою серед арбовірусних інфекцій є кліщовий енцефаліт. Це гостра вірусна інфекція з переважним ураженням ЦНС. В залежності від географічного положення вогнища і сезонності захворювання також відоме як тайговий енцефаліт, російський далекосхідний енцефаліт, весняно-літній менінгоенцефаліт, центрально-європейський енцефаліт і ін. Резервуар і переносник вірусу – кліщі *Ixodes persulcatus* і *I. ricinus*. Додатковий резервуар – птахи, в них розвивається безсимптомна інфекція з вірусемією.

Метою нашої роботи було виявлення вірусу кліщового енцефаліту в іксодових кліщів, знятих з птахів, що мігрують через острів Зміїний.

Матеріалом дослідження була суспензія кліщів. Для виявлення кліщів у відловлених птахів переглядали голову (біля дзьоба, очей, барабаних перетинок), а також біля клоакального отвору.

Всі знайдені кліщі відокремлювали від хазяїна “очним” пінцетом та поміщали у стандартні вологі камери, які утримували у прохолодному місці, захищеному від прямого сонячного світла. Для готування суспензії кліщів поміщали в одну пробу до 50 кліщів (одного виду, статі, фази розвитку), зібраних з одного хазяїна.

Для постановки реакції імуноферментного аналізу використовували тест-системи виробництва Інституту вірусології ім. Д. І. Івановського РАМН (м. Москва) та Вектор-Бест (п. Кольцово, Росія). Облік реакції ІФА здійснювали за допомогою спектрофотометра.

В результаті досліджень встановлено, що з 179 птахів, відловлених навесні на острові, 62 були носіями кліщів, контамінованих арбовірусами, що складало 34,6%. Порівняльний аналіз показав надзвичайно широкий видовий склад птахів–мігрантів, що навесні транспортували інфікованих вірусом кліщового енцефаліту кліщів через острів Зміїний до України і Європи.

Найбільш часто серед птахів-транспортерів інфікованих кліщів зустрічалися дрізд чорний (24,2%), соловейко звичайний (11,3%) і очеретянка чагарникова (11,3%). Наші спостереження свідчать про те, що весною можливий занос контамінованих арбовірусами кліщів з Північної Африки та Близького Сходу до України і Європи.

Ці дані мають важливе значення, тому що синантропні види птахів перебувають в тісному контакті з людиною, але водночас зі збудником та переносниками, активно втягуються в циркуляцію інфекції.

Робота виконана у рамках НДР ЗМ/322-2008.

Ковалишин А., Кирик М.

ФІТОПАТОГЕННА ТА САПРОФІТНА МІКРОБІОТА КОЛОСА І НАСІННЯ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ

*Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв оборони, 13, Київ, 03041, Україна*

Великою загрозою для озимої пшениці є хвороби насіння. Останнє є добрим живильним субстратом для багатьох патогенних та сапротрофних агентів.

Насіння сільськогосподарських культур служить субстратом для різноманітної мікрофлори, яка складається в основному з грибів, а також бактерій, мікоплазмів, вірусів (Столяр І.С. 1983, Трисвятский Л.А. и др. 1975).

Незараженого насіння практично не існує, так як насіння за хімічним складом є повноцінним живильним середовищем для розвитку багатьох мікроорганізмів, в т. числі і грибів (Наумова Н.А. 1970).

Насіння має здатність до самозахисту, але чим нижча його життєздатність, тим слабше виражена ця властивість. Нежиттєздатне насіння, що втратило схожість є найбільш сприятливим середовищем для мікроорганізмів (Семенов А.Я., Федорова Р.Н. 1984).

Існують грибні мікроорганізми, які здатні досить сильно уражувати колос та зернівки і знижувати врожай. Багато мікроорганізмів за нормальних умов зберігання не розвиваються, перебувають у стані латентної інфекції. Вони здатні уражувати проростки та рослини, що вирости з ураженого насіння або, при порушенні умов зберігання, можуть активно розвиватися і уражувати зерно. При такій інфекції не змінюється пігментація насіння, не порушується його структура, насіння виглядає цілком нормальним і є, на перший погляд, придатним для сівби. Тому для запобігання хвороб рослин у польових умовах потрібно проводити детальний аналіз насіння, як одного з першоджерел багатьох хвороб.

Дослідження проводили в Миронівському інституті пшениці імені В.М.Ремесла на сорті озимої пшениці Подольнка.

У 2008 році в польових умовах на колосі даного сорту озимої пшениці було відмічено наявність двох хвороб: ензимо-мікозного виснаження та фузаріозу колосу. Перша хвороба охопила 49,5% рослин, друга – 1%.

На основі проведеного фітопатологічного аналізу відібраних зразків спостерігалось насіння з чорним зародком (9%), плюскле насіння (14,25%) та насіння з чітко вираженим фузаріозним нальотом (1,75%).

При ідентифікації видового складу збудників цих хвороб були виявлені представники *Aternaria alternata* Keis., відсоток заселення насіння яким становив 30%, *Fusarium graminearum* Schw., - 30%, *Fusarium culmorum* (W. C. Sm.) Sacc. – 20%, *Fusarium moniliforme* Sheld. – 10%, *Fusarium oxysporum* Shlecht. – 10%.

Таким чином в результаті проведених досліджень в умовах Миронівського інституту пшениці імені В.М.Ремесла в 2008 р. було встановлено, що основними патогенами, які спричиняють мікозну стадію ензимо-мікозного виснаження та фузаріоз колосу були гриби *Alt.alternata*, *F.graminearum*, *F.culmorum*, *F.moniliforme* та *F. Oxysporum*. Діагностичними ознаками хвороб насіння, викликаних наведеними вище збудниками, були чорний зародок, плюсклість насіння та фузаріозний наліт на його поверхні. Розбіжності в результатах визначення поширення фузаріозу колосу в польових умовах і мікологічних аналізів хворого насіння (сумарний відсоток заселення ними насіння озимої пшениці становив 70%) свідчать про те, що в 2008 році збудники з роду *Fusarium* в основному знаходились в стані латентної інфекції.

Коваль Н., Звір Г.

ПОШИРЕНІСТЬ РЕВМАТИЗМУ ТА ІМУНОПАТОЛОГІЧНІ ЗМІНИ У ДІТЕЙ РІВНЕНЩИНИ

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна*

Серед захворювань, які протікають з ураженням серця у дітей, ревматизм займає одне із провідних місць. Він викликає незворотні зміни у передсердно-шлуночкових клапанах, міокарді, коронарних судинах, нерідко призводячи до інвалідності. На жаль, останнім часом ревматизм часто протікає у латентній формі, тому хворі звертаються до лікаря вже зі сформованими вадами серця. Центральне місце в індукції цього аутоімунного захворювання належать ревматогенним стрептококам групи А, які мають набір антигенів, що перехресно реагують з компонентами м'язових клітин міокарду. Найбільш вивченими продуктами життєдіяльності стрептококів групи А є гемолізینی. Один з них – стрептолізин S – має цитотоксичний ефект, що проявляється в інтенсивному руйнуванні гранулоцитів, ферменти яких надходять у позаклітинний простір і викликають деструкцію сполучної тканини. Стрептолізин О викликає швидку й необоротну втрату скоротливої здатності міокарду. Кардіотоксичність пов'язують з порушенням процесів мітохондріального дихання. Тому важливим механізмом у розвитку ревматизму є відповідь імунної системи організму на дію перехресних антигенів, в процесі якої виробляються антитіла з наступним утворенням, циркуляцією у крові та відкладенням у тканинах імунних комплексів.

Метою роботи було дослідження поширеності ревматизму серед дитячого населення Рівненської області у 2006–2007 р.р. та вивчення деяких показників імунітету.

Встановлено, що поширеність ревматизму серед населення Рівненської області (на тисячу жителів) у 2006–2007 р.р. становила відповідно 8,2 та 8,0, причому діти віком до 17 років становили 38% та 32,5%. Слід відмітити, що ревматизм домінував над іншими ревматичними хворобами серця. Так, він переважав у 1,15 та 1,08 разів хронічні ревматичні хвороби серця, у 7,75 та у 13 разів – гостру ревматичну гарячку. Найвища захворюваність ревматизмом серед дітей виявлена у Зарічненському (7,6 та 6,1 на тисячу дітей), Здолбунівському (4,7 та 5,4), Острозькому (4,6 та 3,8), Рокитнівському (3,4 та 3,9), Березнівському (3,3 у 2006 р.) районах та містах Рівне (4,5 та 4,3) і Дубно (5,2 та 3,1). Підвищений ризик захворюваності на ревматизм у цих районах Рівненської області пов'язаний, очевидно, з високим рівнем вологості, а також з присутністю промислових підприємств.

Вивчення показників імунітету у хворих на ревматизм дітей показало зростання у них: білків "гострої фази" (α_2) у 1,5–2,3 рази та γ -глобулінів у 1,6–2 рази; антистрептолізину – у 2–8 разів; С-реактивного білка – у 2–6 разів, а також серомукоїдів та сіалових кислот.

Когут О.С., Мороз О.М., Клим І.Р., Борсукевич Б.М.

**ОКИСНЕННЯ СІРКОВОДНЮ КУЛЬТУРАМИ СІРКООКИСНЮЮЧИХ БАКТЕРІЙ,
ВИДІЛЕНИХ З ОЗЕРА "ЯВОРІВСЬКЕ"**

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна

E-mail: microbio@franko.lviv.ua

В природних умовах тіонові бактерії поширені в морях, прісних водоймах, ґрунті, особливо у присутності неорганічних сполук сірки з різним ступенем відновленості: у сірчаних джерелах, сульфідних і сірчаних родовищах, місцях очистки стічних вод і місцях утворення сірководню, у придонних осадах або в анаеробних зонах ґрунтів. У водоймах ці бактерії розвиваються на межі кисневого і сірководневого водних шарів, де відновлені сполуки сірки є основним джерелом електронів, а в середовищі мало органічних сполук. Сірководень та інші відновлені сполуки сірки окиснюються сіркоокиснюючими бактеріями до сірки і сульфатів. У водоймі кар'єру Яворівського сіркового родовища або озері "Яворівське" склалася критична екологічна ситуація у зв'язку з забрудненням води агресивними сполуками сірки, особливо сірководнем. Зменшення вмісту сірководню впродовж останніх років у поверхневих шарах води озера і збільшення концентрації сульфатів є ознакою активних процесів окиснення відновлених сполук сірки сіркоокиснюючими бактеріями.

Сіркоокиснюючі бактерії виділяли на середовищі Бейєринка для *Thiobacillus thioparus*. Отримано 3 чисті культури: *Yav-1*, *Yav-2*, *Yav-3*, які за морфо-фізіологічними особливостями ідентифіковано як бактерії роду *Thiobacillus*. Вивчали закономірності окиснення сірководню клітинами отриманих чистих культур та штаму *T. thioparus* із ВКМ Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України. Клітини культивували (густина засіву 0,05 г/л) при 30° С впродовж 9 діб у рідкому середовищі Бейєринка (20 мл середовища у колбах, об'ємом 100 мл), у яке вносили різну кількість сірководню: 1292 (контроль: концентрація сірководню еквімолярна концентрації тіосульфату у середовищі Бейєринка), 2584, 5168, 7752 мг/л. Як контроль використовували середовище із сірководнем у вищезазначених концентраціях без клітин (для врахування випаровування сірководню). Після певних проміжків часу визначали біомасу фотоелектроколориметричним методом та сірководень йодометрично.

При внесенні у середовище 2584 мг/л сірководню ріст всіх культур і штаму *T. thioparus* не відрізнявся від росту бактерій у середовищі, яке містило 1292 мг/л сірководню. Ріст культур у середовищі Бейєринка з сірководнем у вищих концентраціях: 5168 і 7752 мг/л, виявився пригніченим, на 9 добу біомаса всіх культур і штаму *T. thioparus* виявилася відповідно у 1,5–2,5 рази нижчою від біомаси культур, вирощених у присутності 1292 мг/л сірководню. При додаванні у середовище 1292 мг/л сірководню (контроль) клітини культур *Yav-1*, *Yav-2*, *Yav-3* за 9 діб росту окиснювали (з врахуванням випаровування) 915,1–980,3 мг/л сірководню (*T. thioparus*: 930,1 мг/л) або 70,82–75,85% (контроль: 71,98%). У присутності 2584, 5168, 7752 мг/л сірководню у середовищі Бейєринка клітини бактерій окиснювали відповідно 1865,4–2009,9; 2840,4–2990,3; 2680,1–2821,3 мг/л сірководню (*T. thioparus*: 1989,2; 2946,3; 2791,1 мг/л) або 72,17–77,79; 54,95–57,86; 34,57–36,39% (контроль: 76,97; 57,00; 36,00%). Найбільше сірководню, порівняно з іншими культурами, окиснювала культура *Yav-1*: 77,79% при додаванні у середовище 2584 мг/л сірководню.

Таким чином, виявлено здатність сіркоокиснюючих бактерій ефективно окиснювати сірководень у концентрації 2584 мг/л, яка вдвічі перевищує стандартний вміст сірководню у

середовищі Бейеринка. При вищих концентраціях сірководню у середовищі пригнічується ріст бактерій, їх здатність окиснювати сірководень знижується.

Крижко А., Кузнєцова Л.

**МОРФОЛОГІЧНІ ТА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ
ЕНТОМОПАТОГЕНОГО ШТАМУ *BACILLUS THURINGIENSIS* 0371-1**

Південна дослідна станція Інституту сільськогосподарської мікробіології УААН

вул. К.Маркса, 107, смт. Гвардійське, Сімферопольський район, 97513 Україна

E-mail: solanum@ukr.net; icxm@mail.ru

Прагнення до зниження забруднення біосфери зумовлює інтерес до пошуку нехімічних засобів захисту рослин від шкідливих комах. Більшість біопрепаратів, що випускаються сьогодні у світі, виготовляються на ентомопатогенних штаммах *B. thuringiensis*, тому пошук нових штамів залишається актуальним. До того ж велика чисельність комах, природна стійкість їх до інфекцій, складні біоценотичні зв'язки, вплив абіотичних факторів сприяють утворенню нових активних форм мікроорганізмів в природі.

Виходячи з вище зазначеного, у 2007-2008 р.р. з природних популяцій Криму зібрано 10 загинлих комах, представників рядів *Coleoptera*, *Lepidoptera*, *Diptera*. З трупів гусені американського білого метелика (*Hyphantria cunea Drury*, *Lepidoptera*) виділено штам 0371-1, який за первинними ознаками споро- та кристалоутворення був ідентифікований як *B. thuringiensis*.

Ентомопатогенну дію виділеного штаму вивчали в лабораторних дослідах на личинках колорадського жука молодшого віку (*Leptinotarsa decemlineata*, *Coleoptera*). Обробку корму (листя картоплі) проводили рідкою споровою культурою штаму при титрі спор 200 млн./мл. Рідкі спорові культури отримували при культивуванні бактерій на технологічних качалках у колбах об'ємом 750 мл з 50 мл поживного середовища. Результати, отримані протягом дослідів свідчать про те, що штам 0371-1 є ентомопатогенним проти личинок колорадського жука. Ефективність штаму протягом 5 діб становила 100%.

Для ідентифікації виділеного штаму вивчали його морфологічні та фізіолого-біохімічні властивості. Визначено, що при культивуванні на МПА бактерії утворюють круглі або неправильної форми колонії з зубчастим краєм, в'язкі за консистенцією, діаметром у середньому 5-12 мм. Рельєф колоній плоский, поверхня матова, сірувато-бежевого кольору з більш світлим ареолом. Культури швидкоростучі, з'являються на поверхні МПА на другу-третю добу. Температурний оптимум росту - 26-30 °С.

Методом мікроскопії встановлено, що при рості на МПА на стадії вегетативного росту бактерії утворюють ланцюжки (до 6-8 клітин у ланцюжку). Забарвлення за Грамом позитивне. Спори у клітинах розташовані субтермінально, кристали ендотоксину знаходяться у протилежному від спор кінці клітини.

Вивчення фізіолого-біохімічних властивостей виділеного штаму проводили за схемою А. Ваґґас, А. Bonnefoi и О. Lysenko. Показано, що бактерії штаму здатні утворювати ацетилметилкарбінол на середовищах, які містять пептон і глюкозу та лецитиназу на середовищах, що містять лецитин. Виявлено здатність до гідролітичного розщеплення крохмалю. Зона гідролізу складає 2,5-3,5 мм. Як джерела вуглецю бактерії засвоюють сахарозу та манозу, володіють протеолітичною активністю, що виявляється у розрідженні желатину. Бактерії не утворюють уреаз та пігментів. На МПБ утворюють вуаль та пристінне кільце, слабо утворює муть та осад.

Встановлено здатність штаму до продукування термостабільного екзотоксину.

Усі наведені характеристики дозволяють ідентифікувати виділений ентомопатогенний штам 0371-1 як штам бактерій групи *B. thuringiensis* var. *thuringiensis*.

Лagno O., Горішний M., Гудзь С.

**ВИКОРИСТАННЯ СІРКОВОДНЮ *CHLOROBIVM LIMICOLA* YA-2002
У ПРОЦЕСІ АНОКСИГЕННОГО ФОТОСИНТЕЗУ**

*Кафедра мікробіології Львівського національного університету імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
E-mail: atika68@yandex.ru .*

Досліджено ріст фотосинтезувальних зелених сіркових бактерій *C. limicola* Ya-2002 за різних концентрацій гідроген сульфід у середовищі. Найбільшу біомасу бактерії утворювали за наявності в середовищі 3-5 мМ гідроген сульфід. Подальше зростання вмісту H_2S в середовищі супроводжувалося пригніченням росту культури. За концентрації гідроген сульфід 5 мМ біомаса бактерій зменшувалась на 30%, а при концентрації 6мМ культура не росла.

Використання H_2S , залежить від інтенсивності освітлення клітин *C. limicola* Ya-2002. Максимальна швидкість утилізації гідроген сульфід спостерігалася при інтенсивності освітлення у 40 лк, збільшення цього показника призводило до зниження швидкості використання H_2S .

Швидкість утилізації гідроген сульфід *C. limicola* Ya-2002 залежить від різної концентрації CO_2 в середовищі. За оптимальних умов освітлення і концентрації CO_2 в середовищі (10 г/л) культура повністю використовувала сірководень протягом 6 діб культивування. Додаткове внесення H_2S до ростучої культури, що перебувала у фазі сповільненого росту, причиною якого було вичерпання гідроген сульфід, відновлювало ріст культури й інтенсивне використання H_2S .

Таким чином, максимальний ріст *C. limicola* Ya-2002 спостерігали за концентрації H_2S 3-5мМ інтенсивності освітлення 40 лк та концентрації CO_2 10 г/л. Додаткове внесення H_2S до ростучої культури після його вичерпання відновлює використання H_2S та ріст культури.

Литвин М.

ЕНТЕРОТОКСИГЕННІ ВЛАСТИВОСТІ ШТАМІВ E. COLI, ВИДІЛЕНИХ ВІД ТЕЛЯТ

*Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв оборони, 15, м. Київ -041, 03041, Україна
E-mail: marialitvin@rambler.ru*

В процесі селекції *E. coli* з пробіотичними ознаками ми виділяли ешерихії від клінічно здорових телят віком від 14 до 60 діб та визначали, зокрема, ентеротоксигенні їх властивості на ізолюваних петлях тонкого кишечника морських свинок (безпородні, масою 300-500 гр.). Перед оперуванням морських свинок витримували на голодній дієті. Наркоз здійснювали за допомогою кетаміну. Робили розріз по білій лінії розміром 3-4 см. Діставали тонкий кишечник, клали його на стерильну серветку та зрошували фізіологічним розчином хлориду натрію через кожні 5-7 хв. Перед накладанням лігатури ділянку кишечника промивали 0,9 % - ним розчином хлориду натрію; лігатури накладали на порожню кишку, з проміжком в 1 см (11 – 12 лігатур). Дослідні зразки (суспензія 24-годинної агарової культури, 500 млн. м. тіл) вводили в дозі 0,1 мл через один сегмент. У останні (контрольні) сегменти вводили 0,1 мл 0,5%-ного розчину хлориду натрію. Петлі кишечника вправляли у черевну порожнину та накладали шви. Через 16 годин здійснювали еутаназію тварин; діставали кишечник, з кожного сегменту відсмоктували рідину та розраховували індекс дилатації (ІД) за формулою $ID=V/L$, де V - об'єм рідини, мл, L - довжина сегменту кишечника, см.

У таблиці, наведеній нижче, представлені результати досліджень.

Результати визначення ентеротоксигенних штамів *E. coli* на морських свинках

№ штаму	Результати дослідження	
	Вміст рідини у дослідному сегменті, мл	Індекс дилатації
1	-	-
5	0,15	0,15
6	0,65	0,65
1 Б	-	-
8 Б	0,2	0,2
14 Б	-	-

Як свідчать представлені у таблиці дані, штами *E. coli* (1, 1Б, 14Б) не виявили ознак ентеропатогенності, штами 5, 6 та 8Б обумовили накопичення рідини у ізолюваних сегментах порожньої кишки морської свинки. При цьому лише один штам (№ 6) за прийнятою шкалою оцінки виявився ентеротоксигенним.

Штами 1, 1Б та 14Б, які не зумовили накопичення рідини у сегментах кишок морської свинки, відібрані для подальших досліджень на предмет визначення їх пробіотичної придатності.

Лисова Н., Отуріна І.

ДОСЛІДЖЕННЯ РИЗОСФЕРНОЇ БАКТЕРІАЛЬНОЇ МІКРОФЛОРИ, АСОЦІЙОВАНОЇ З КОРИННЯМ ОРХІДЕЇ *CEPHALANTHERA DAMASONIUM* MILLD

Таврійський національний університет імені В.І. Вернадського

пр. Вернадського, 4, м. Сімферополь, 95007, АР Крим, Україна

E-mail: irina.oturina@mail.ru

На даний момент дослідження в області асоційованих симбіозів представлені цілим рядом напрямків, які вивчають проблему на рівнях від молекулярного та клітинного до біогеоценотичного. У зв'язку з цим рослини розглядаються як центри формування спеціалізованих угруповань мікроорганізмів, які безперервно виділяють в навколишнє середовище різні комбінації органічних сполук, що поліфункціонально впливають на рослинні організми. Вивчення потенційної здатності ґрунтових бактерій продукувати рістрегулюючі речовини являє собою не тільки теоретичний, але й практичний інтерес у зв'язку з детальним дослідженням спеціалізованих взаємовідносин між організмами з різними рівнями організації. Відомості про те, що деякі види мікроорганізмів, асоційованих з корінням орхідних і інших рослин, проявляють виражену фітогормональну активність малочисельні. У зв'язку з цим метою даного дослідження було вивчення кількісних характеристик і морфолого-культуральних особливостей ґрунтових бактерій, які входять до складу ризосфери та ризоплани кримської дикорослинної орхідеї *Cephalanthera damasonium* Milld.

Матеріалом для дослідження слугувала коренева система та зразки ґрунту з прикореневої зони *Cephalanthera damasonium* популяції ботанічного саду Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського, які відбиралися в літній період 2008 року. Особини популяції *C. damasonium* мають мозаїчне розташування площею 52 м². Ґрунт під цими популяціями – коричневий, завезений з природнього місцезнаходження даного виду орхідей. Культивування мікроорганізмів, виділених з ґрунту методом граничних розведень, проводили на твердих живильних середовищах в термостаті в темряві при 35 – 37⁰ С протягом 3 – 7 діб.

При кількісному аналізі складу бактеріальної мікрофлори ризосфери та ризоплани було виявлено, що на 3-ю добу культивування на МПА загальне мікробне число (ЗМЧ) складало в 1 мл мікробної суспензії в середньому 2,0410⁷ та 1,5410⁷ КУО, а на 7 добу – 2,4410⁷ та 2,0410⁷ КУО відповідно. Виявлено, що на МПА формуються переважно округлі білі або сіруваті колонії зі зморщеною, гладкою блискучою чи шорсткою матовою поверхнею та гладким, лопатевим або війчастим краєм. Профіль колоній – піднятий або випуклий. При порівняльному кількісному аналізі ґрунтової бактеріальної мікрофлори, яка висіяна на поверхню агаризованої ґрунтової витяжки виявлено, що кількість колоній була значно більшою, ніж на МПА (5,0410⁷ КУО). Основна маса колоній мала крапкові розміри, переважно сіруватий колір з гладкими краями та блискучою поверхнею.

При мікроскопуванні пофарбованих за Грамом мазків мікроорганізмів виділених із колоній встановлено, що в бактеріальній мікрофлорі ризосфери та ризоплани *C. damasonium* переважають грампозитивні спороутворюючі палички. Проведена первинна ідентифікація бактеріального складу ґрунтової мікрофлори, серед котрої зустрічались представники родів *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* та *Micrococcus*. Незвичайних бактерій, можливо, характерних тільки для ризосфери орхідних, не знайдено.

Таким чином, ризосферна та ризопланова мікрофлора *C. damasonium* відрізняється в основному за своєю чисельністю. Подальше вивчення асоціативних взаємовідносин представників бактеріальної ризосферної мікрофлори, а також ґрунтових мікроміцетів і актиноміцетів дозволить визначити їх можливу роль у регуляції росту та розвитку даного виду кримських орхідей.

Манжула Н., Пирог Т., Волошина І.

ОПТИМІЗАЦІЯ СКЛАДУ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ ПРОДУЦЕНТА ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *NOCARDIA VACCINII* K-8

Національний університет харчових технологій

вул Володимирська, 68, Київ, 01033, Україна

E-mail: tapirog@usuft.kiev.ua

У попередніх дослідженнях встановлено можливість синтезу метаболітів з поверхнево-активними та емульгувальними властивостями під час культивування *Nocardia vaccinii* K-8 на дешевих мінеральних середовищах з гідрофільними субстратами (етанол, гліцерин). Особливо доцільним є використання гліцерину як субстрату для синтезу поверхнево-активних речовин (ПАР). Це зумовлено тим, що гліцерин є побічним продуктом, утворюваним у великих кількостях під час одержання біодизелю з рослинної і тваринної сировини, і на теперішній час вважається найперспективнішим і найдешевшим субстратом для біотехнологічних процесів.

У зв'язку з цим, мета даної роботи – оптимізація синтезу ПАР за умов росту *N. vaccinii* K-8 на гліцерині з використанням методів математичного планування, зокрема, методу повного факторного експерименту (ПФЕ). Метод ПФЕ широко застосовується з метою оптимізації складу поживних середовищ для підвищення рівня як біомаси, так і практично важливих метаболітів мікроорганізмів. Він дає змогу одночасно дослідити не тільки вплив кількох факторів на процес біосинтезу, а й кількісно оцінити ступінь цього впливу.

Оптимізацію складу поживного середовища здійснювали за послідовної зміни трьох незалежних керованих факторів – концентрації джерела вуглецю (гліцерин, x_1), азоту (нітрат калію, x_2) та дріжджового екстракту (x_3). Рівень синтезу ПАР оцінювали за показниками умовної концентрації поверхнево-активних речовин (ПАР*) та індексу емульгування (E_{24} , %) розбавленої у 50 разів культуральної рідини.

Базовим рівнем концентрації для гліцерину було обрано 1,5% (об'ємна частка), для нітрату калію – 1,0 г/л, для дріжджового екстракту – 0,15 г/л. Границі варіювання концентрацій досліджуваних факторів підбирали так, щоб обидва рівні кожного фактора перебували у лімітувальній зоні, межі якої встановлювали у попередніх експериментах. Після реалізації дослідів згідно з матрицею планування ПФЕ 2^3 розрахунків коефіцієнтів регресії та оцінки їх значущості одержано лінійне рівняння регресії, яке адекватно описує досліджуваний процес. Перевірку адекватності рівняння процесу здійснювали з використанням критерія Фішера. Розраховане емпіричне значення критерія Фішера ($F_{\text{роз}} = 0,021421$) менше його критичного показника ($F_{\text{кр}} = 3,24$), який визначали за табличними даними. Отже, виконується умова $F_{\text{роз}} < F_{\text{кр}}$, яка дає змогу зробити висновок, що рівняння регресії адекватно описує досліджуваний процес, а вибрані форма математичного опису та інтервали варіювання Dx_i є допустимими.

Оптимізацію складу поживного середовища проводили за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel, яка містить у собі допоміжний статистичний пакет аналізу даних. За результатами цих даних було встановлено оптимальні умови вирощування *N. vaccinii* K-8, за яких синтез ПАР буде максимальним: концентрація гліцерину – 3%, азоту – 1,5 г/л, дріжджового автолізу – 0,2 г/л. Ці значення є граничними. Під час експериментальних досліджень було встановлено, що за наявності у поживному середовищі 3% гліцерину вихід ПАР від субстрату був значно нижчим, ніж за використання 2%, а при збільшенні концентрації дріжджового автолізу не спостерігали підвищення синтезу ПАР. Одержані дані є вихідними для розробки технології синтезу ПАР *Nocardia vaccinii* K-8.

Масюк О., Мороз О., Борсукевич Б., Клим І., Перетятко Т.

**РОЛЬ СУЛЬФАТВІДНОВЛЮВАЛЬНИХ БАКТЕРІЙ У РЕГУЛЯЦІЇ РІВНЯ ВАЖКИХ
МЕТАЛІВ У ВОДІ КАР'ЕРУ ЯВОРІВСЬКОГО СІРКОВОГО РОДОВИЩА**

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

E-mail: biolog@franko.lviv.ua

У результаті затоплення водою прилеглих річок і підземних вод найбільшого у світі кар'єру Яворівського сіркового родовища утворилося штучне озеро, яке дістало назву “Яворівське”. Озеро містить понад 200 млн. м³ води, в якій виявлено високий вміст важких металів: стронцію, марганцю, цинку, кадмію, свинцю, міді, кобальту, нікелю, заліза: $1,86 \pm 0,03$; $0,568 \pm 0,008$; $0,014 \pm 0,003$; $0,033 \pm 0,004$; $0,014 \pm 0,002$; $0,0032 \pm 0,0004$; $0,011 \pm 0,002$; $0,014 \pm 0,004$; $0,075 \pm 0,003$ мг/л, відповідно. Крім цього, у водах озера, внаслідок заповнення стічними водами річок, нагромаджуються великі кількості органічних речовин і сульфатів. Це створює сприятливі умови для розвитку сульфатвідновлювальних бактерій, продуктом життєдіяльності яких є сірководень. Біогенний сірководень взаємодіє з важкими металами з утворенням нерозчинних сульфідів, які осідають на дні та вилучаються з кругообігу речовин.

Показано, що штам сульфатвідновлювальних бактерій *Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11, виділений з озера “Яворівське”, який ефективно здійснює дисиміліаційну сульфатредукцію, виявляє підвищену стійкість до іонів свинцю, цинку, нікелю, кобальту, міді, заліза, кадмію. Вивчено ріст штаму Ya-11 у присутності важких металів (0,3-3 мМ): Pb²⁺, Zn²⁺, Ni²⁺, Co²⁺, Cu²⁺, Fe²⁺ та Cd²⁺, у середовищі Кравцова-Сорокіна впродовж 14 діб. За низьких концентрацій: 0,3-1 мМ, Zn²⁺, Cu²⁺, Cd²⁺ та Fe²⁺ не здійснювали негативного впливу на ріст штаму Ya-11. У присутності Cd²⁺ біомаса виявилася незначно вищою, ніж у контролі: $2,34 \pm 0,12$, $2,64 \pm 0,09$ г/л, контроль: $1,76 \pm 0,03$ г/л. Pb²⁺, Ni²⁺ та Co²⁺ за концентрацій понад 0,7 мМ суттєво пригнічували ріст Ya-11. За концентрації 3 мМ іони всіх досліджуваних металів пригнічували ріст бактерій більш, ніж утричі. Можливо, за концентрацій іонів важких металів понад 1-1,5 мМ у середовищі їхній вміст у цитоплазмі та поверхневих клітинних структурах перевищує біосорбційну спроможність клітин, що призводить до різкого зниження життєздатності. Одночасно в таких умовах зменшується кількість продукovanого клітинами сірководню, яка виявляється недостатньою для усунення іонів важких металів з середовища.

Встановлено, що за 14 діб росту в середовищі Кравцова-Сорокіна у присутності 0,3-1 мМ Pb²⁺, Zn²⁺, Ni²⁺, Co²⁺, Cu²⁺, Fe²⁺ та Cd²⁺ клітини штаму Ya-11 продукували $2,07 \pm 0,05$ – $2,45 \pm 0,05$ мМ сірководню, контроль: $2,43 \pm 0,04$ мМ. Зі зростанням концентрацій металів у середовищі клітини продукували меншу кількість сірководню, у присутності 3 мМ металів за 14 діб утворювалося лише $0,76 \pm 0,02$ – $0,85 \pm 0,06$ мМ сірководню. У присутності 1,5 мМ металів у середовищі культивування виявлено найвищі концентрації відповідних металосульфідів: від $130,3 \pm 0,1$ мг/л сульфиду заліза до $353,1 \pm 0,3$ мг/л сульфиду свинцю. За вищих концентрацій іонів металів у середовищі кількість сульфідів цих рівнів не досягала. Згідно теоретичних розрахунків, при концентрації 1,5 мМ іонів металів у середовищі практично весь утворюваний клітинами сірководень зв'язується з металами.

Таким чином, показана можливість використання сульфатвідновлювальних бактерій для очищення вод від іонів важких металів, сірководню і сульфатів. За рахунок життєдіяльності клітин цих бактерій іони металів, особливо у низьких концентраціях, можуть бути ефективно іммобілізовані у вигляді сульфідів внаслідок зв'язування з токсичним для довкілля сірководнем і таким чином усунені із водного середовища.

Михайлова Г., Корзюков Є., Горшкова О., Калініченко Є., Гудзенко Т., Тіхенко Н.

**ВИЯВЛЕННЯ АРБОВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ У СИНАНТРОПНИХ ПТАХІВ,
МІГРУЮЧИХ ЧЕРЕЗ О. ЗМІЙНИЙ**

*Одеський національний університет імені І.І.Мечникова
м. Одеса, Шампанський пров.2, 65000, Україна
E-mail: tipushka@mail.ru*

Острів Зміїний є ключовим пунктом міграційних шляхів перелітних птахів, його географічне положення дає можливість вести орнітологічні спостереження за птахами, які мігрують з африканського континенту до Європи.

Крім наукового, орнітологічні спостереження на о.Зміїний мають й практичне епідеміологічне значення, тому що міграції птахів сприяють циркуляції і передачі вірусів у природних вогнищах, обміну вірусами між мігруючими і місцевими птахами.

Для вірусних інфекцій різного походження, які екологічно пов'язані з птахами, характерна наявність природних вогнищ захворювання. В нинішній час на Україні відбувається активізація природних вогнищ таких небезпечних інфекцій, як кліщовий енцефаліт, геморагічні лихоманки тощо.

У зв'язку з цим особливе значення мають моніторингові дослідження, спрямовані на виявлення арбовірусної інфекції у птахів, що мігрують через острів Зміїний.

Для виявлення антигенів вірусів кліщового енцефаліту готували 10 % суспензію головного мозку птахів. Для постановки реакції імуноферментного аналізу використовували тест-системи виробництва Інституту вірусології ім. Д. І. Івановського РАМН (м. Москва) та Вектор-Бест (п. Кольцово, Росія). Постановку реакції здійснювали у відповідності до інструкції до тест-системи. Облік реакції ІФА здійснювали за допомогою вертикального спектрофотометра (рідера) "Sanofi Diagnostics Pasteur PR2100" або "Reader 530 Organon Teknika".

Навесні 2008 р. було обстежено 99 птахів 28 видів, що навесні мігрували через о. Зміїний з Південної Африки до України і Європи. У 6 з них знайдені антигени вірусу кліщового енцефаліту, що складало 6,1%. При цьому видове різноманіття заражених птахів було достатньо великим – 3 види, у тому числі один синантропний.

Контамінованими вірусом кліщового енцефаліту були кропив'янка прудка, вільшанка і ластівка сільська. Однак у даному випадку не можливо зробити висновок про найбільшу ступінь інфікованості вільшанок (3 особини) і ластівок сільських (2 особини), тому що 10 % суспензії головного мозку цих птахів були об'єднані у 2 пули за видовою ознакою.

З цих видів як потенційний переносник особливо небезпечних для людини захворювань може вважатися сільська ластівка — що пов'язано з місцем зимівлі (центр і південь Африки) та із синантропністю даного виду. Передаючись від птаха до птаха за допомогою кліщів або іншими шляхами, арбовіруси тривалий час циркулюють у природі. Все це дозволяє зробити висновок про те, що жаркий і вологий клімат африканського континенту і суміжних територій, висока щільність як зимуючих, так і таких, що гніздяться там птахів, створюють ідеальні умови для розмноження вірусів, для існування стійких і тривалих вогнищ.

Ці дані мають особливо важливе епідеміологічне значення, тому що ластівка сільська – це синантропний вид, який перебуває у тісному контакті з людиною. При кліщовому енцефаліті у птахів розвивається бессимптомна інфекція з вираженою вірусемією, внаслідок чого вони можуть заражати велику кількість кліщів, що в свою чергу небезпечні для людини.

Робота виконана у рамках НДР ЗМ/322-2008.

Мокрозуб В., Воронкова О., Вінніков А.

ПОКАЗНИКИ ІМУННОГО СТАТУСУ МИШЕЙ З ЕКСТРАГЕНІТАЛЬНОЮ ПАТОЛОГІЄЮ

*Дніпропетровський національний університет ім. О. Гончара
просп. Гагаріна, м. Дніпропетровськ, 7249050, Україна
E-mail: chipset18@mail.ru*

Розвиток організму відбувається в агресивному оточенні. Хвороботворні мікроорганізми зумовлюють необхідність розвитку механізмів захисту, які переважно здійснюються імунною системою [Передерий В.Г.,1995; Кацы Г.Д., 2003].

Імунний статус – це комплекс специфічних та неспецифічних механізмів, що забезпечують антибактеріальний, протівірусний, протигрибковий та протипухлинний захист організму [Соколова І.Є., 2007; Федотова Т.А., 2001].

Імунний статус в нормі характеризується підтриманням певного сталого рівня показників, що відповідають вмісту клітин та факторів імунної системи в організмі [Кацы Г.Д., 2003].

В ході дослідження встановлено, що в контрольній групі тварин (здорові особини), $n=8$, показники імунного статусу знаходились на наступному рівні: загальна кількість лейкоцитів становила $(9,53 \pm 0,95) \times 10^6$ клітин/мл; відсоток лімфоцитів склав $36,8 \pm 1,61\%$. Рівень клітин, що мали ознаки апоптозу, становив $19,3 \pm 2,43\%$. Показник НСТ-тесту склав $18,1 \pm 2,59\%$. Рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦИКів) зафіксований на рівні $0,72 \pm 0,12$ одиниць оптичної густини.

Шкіра людини та тварин заселена сапрофітними та умовно-патогенними мікроорганізмами, що є представниками нормальної мікрофлори. [Ефимов Б.А., 1992; Witkin S.S., 2007]. Подрапини, травми та інші порушення цілісності шкірного покриву при їх інфікуванні є причиною виникнення гнійно-запальних захворювань як шкіри, так і внутрішніх тканин та органів. До числа таких мікроорганізмів належить рід *Staphylococcus*. На прикладі декількох експериментальних моделей на тваринах показано, що α -токсин *Staphylococcus aureus* є фактором вірулентності. Інфікування тканин *Staphylococcus aureus* викликає пошкодження та загибель різних клітин, в тому числі і клітин імунної системи. Порушення структури та функцій останніх призводить до неможливості формування адекватної імунної відповіді як на мікроорганізм, так і на його токсини [Зайцева Л.Г., 2005].

Під час утримання тварин у різні періоди часу з загальної кількості особин вилучали тих, що мали на кінцівках та черевці новоутворення невідомої природи та походження.

Аналіз матеріалу, отриманого після розтину показав, що новоутворення являли собою абсцеси. Патогенний матеріал з абсцесів був досліджений бактеріологічним методом. Дослідження встановило наявність в ньому мікроорганізмів родів *Staphylococcus* та *Pseudomonas*. Можливою причиною виникнення даної патології можна вважати укуси інших особин даної популяції.

При дослідженні імунологічних показників особин з новоутвореннями на кінцівках та черевці було відмічено значне зниження загальної кількості лейкоцитів до $(6,73 \pm 0,50) \times 10^6$ клітин/мл й відсотку лімфоцитів до $28,7 \pm 1,69\%$. Рівень апоптичних клітин склав $16,6 \pm 1,80\%$. Рівень НСТ-тесту знизився до $8,14 \pm 1,35\%$ поруч зі зростанням рівня ЦИКів до $1,71 \pm 0,08$ одиниць оптичної густини.

Отже, можна констатувати, що головними відмінностями імунітету тварин з екстрагенітальною патологією у порівнянні зі здоровими особинами є зменшення загальної кількості лейкоцитів й відсотку лімфоцитів, що свідчить про пригнічення як гуморальної, так і клітинної ланок імунітету. Зниження кількості апоптичних клітин та показнику НСТ-тесту вказують на пригнічення фагоцитарної ланки й, відповідно, з протіканням незавершеного фагоцитозу. На фоні збільшення ЦИКів в плазмі крові й пригніченням імунітету не можна виключати можливість виникнення реакцій гіперчутливості III типу (класифікація за Кумбсом та Джелом [Соколова І.Є., 2007]) з подальшим виникненням аутоімунної патології.

Мороз О.¹, Мерцало Г.¹, Звір Г.²

ХЛАМІДІЙНІ ІНФЕКЦІЇ СЕРЕД ЖІНОК РЕПРОДУКТИВНОГО ВІКУ М. ЛЬВОВА

¹ Клініко-діагностична лабораторія Дорожньої поліклініки, м. Львів, Україна

² Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

Запальні захворювання статевих органів є однією з актуальних проблем акушерства, гінекології та урології. Інфекції, збудниками яких є хламідії, мікоплазми, віруси, отримали назву венеричних інфекцій нового покоління. Хламідіози, що посідають друге місце після трихомонадних інфекцій, належать до облігатних внутрішньоклітинних інфекцій, тому можуть тривалий час не проявлятися клінічно. Малосимптомний перебіг захворювання може

привести до виникнення серйозних ускладнень, особливо у вагітних та жінок репродуктивного віку (непліддя, мимовільні викидні, загибель плоду, вроджені каліцтва, дитяча смертність). Так, близько 10% жінок, хворих на хламідійні інфекції, стають неплідними, а в 60 % жінок з урогенітальним хламідіозом при пологах інфікуються діти. Викликає тривогу також зростання кількості змішаних хламідійно-мікоплазмозних, хламідійно-вірусних інфекцій, а також їхні комбінації з умовно-патогенними бактеріями.

Тому метою роботи було дослідження поширеності хламідійних інфекцій серед жінок репродуктивного віку м. Львова у 2007–2008 р.р. і їхнього впливу на перебіг вагітності та розвиток плоду. Для діагностики хламідійної інфекції використовували імуноферментний аналіз (ІФА) з визначенням антитіл класу Ig G до антигенів хламідій (клініко-діагностична лабораторія Дорожньої поліклініки) та полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) (медичний центр “Астар”).

У результаті досліджень виявлено значне поширення хламідіозу серед жінок м. Львова. Серед 1088 і 921 жінок репродуктивного віку, обстежених у 2007 - 2008 роках методом ПЛР у медичному центрі “Астар” за підозрою на хламідіоз, позитивний результат було виявлено у 54 та 23 жінок відповідно, що становило 9,7% та 7,8% від загальної кількості обстежених на цю інфекцію. З використанням ІФА у клініко-діагностичній лабораторії Дорожньої поліклініки у 2008 р. з приводу хламідіозу обстежено 150 жінок, серед яких позитивних виявлено 15 осіб, а у 22 результати були на межі пограничної зони, що становило 10% та 14,6% від загальної кількості обстежених. Встановлено, що хламідіоз у більшості випадків супроводжували інші TORCH-інфекції (герпетичну інфекцію діагностовано майже у 71%, токсоплазмоз у 26%, у поодиноких випадках – мікоплазмоз, уреаплазмоз, трихомоніаз, гонорею, сифіліс). У жінок з хламідіозом відмічено ускладнення перебігу вагітності (загроза переривання, передчасний розрив навколоплідної мембрани, передчасне відшарування плаценти, гіпотонічна маткова кровотеча). Хламідіоз також негативно впливав на розвиток плоду, що проявилось у затримці внутрішньоутробного розвитку, недоношеності, гіпотрофії.

Мороз Л., Полянїнова О., Демченко Н.

ДИНАМІКА ЧИСЕЛЬНОСТІ КОРОЗІЙНО АКТИВНИХ БАКТЕРІЙ БІОПЛІВКИ НА ПОВЕРХНІ СТАЛІ ЗА ПРИСУТНОСТІ ЧЕТВЕРТИННОЇ СОЛІ ТРИАЗОЛАЗЕПІНІУ

Чернігівський державний педагогічний університет імені Т.Г.Шевченка

вул. Гетьмана Полуботка, 53, м.Чернігів, 14013, Україна

E-mail: demch@micro.net.ua

Біоплівка як особлива форма організації мікроорганізмів забезпечує фізіологічну та функціональну стабільність корозійного мікробного угруповання та гарантує конкурентне виживання за несприятливих умов [Андреюк К.І. та ін., 2005].

Метою роботи було дослідити вплив четвертинної солі триазолоазепінію з біоцидною дією до корозійно активних мікроорганізмів [Демченко, 2007] на динаміку чисельності бактерій корозійного мікробного угруповання при формуванні біоплівки на поверхні сталевго зразка.

Мікробне корозійно активне угруповання, до складу якого входили сульфатвідновлювальні (СВБ), заліззовідновлювальні (ЗВБ), денітрифікувальні (ДНБ) бактерії, одержано за умов періодичного культивування на суміші рідких середовищ Постгейта „В”, Каліненка, Гільтая, в співвідношенні 5,0:1,5:1,5 за температури $28 \pm 2^\circ\text{C}$. Кількість бактерій в угрупованні становила: СВБ – $6 \cdot 10^5$ кл/мл, ЗВБ – $6 \cdot 10^7$ кл/мл, ДНБ – $2,5 \cdot 10^8$ кл/мл. Досліди проводили в герметичних скляних ємностях об’ємом 100 мл, які заповнювали зазначеною сумішшю середовищ із інокуляцією 10 мл 3-х добової культури, в які занурювали зразки сталі Ст3пс, знежирені ацетоном і активовані 6N H_2SO_4 , та додавали бромід 1-[2-(4-хлорофеніл)-2-оксоетил]-3-(4-метоксіанілінометил)-6,7,8,9-тетрагідро-5H-[1,2,4]триазоло[4,5-a]азепінію-1 (ЧСТА) в концентрації 0,1 г/л. Повторність дослідів трикратна.

Облік бактерій проводили на 9, 24, 72, 240 та 336 години експозиції. Клітини бактерій біоплівки знімали у фіксований об'єм (40 мл) 0,1N фосфатного буфера (pH=7) за допомогою ультразвуку з частотою 25 кГц (30 с) двічі з інтервалом 60 с на приладі УЗМ-003/н. Кількість бактерій у біоплівці визначали методом граничних десятикратних розведень на відповідних рідких поживних середовищах.

В процесі формування біоплівки відбувались зміни чисельності клітин корозійно активних бактерій як в контролі, так і за присутності ЧСТА (табл.).

Динаміка чисельності бактерій корозійного мікробного угруповання в біоплівці

Час культивування, год	ЗВБ, кл/мл		ДНБ, кл/мл		СВБ, кл/мл	
	контроль	ЧСТА	контроль	ЧСТА	контроль	ЧСТА
9	$6,0 \cdot 10^3$	$6,0 \cdot 10^3$	$2,5 \cdot 10^4$	$2,5 \cdot 10^5$	0	0
24	$2,5 \cdot 10^4$	$2,5 \cdot 10^1$	$6,0 \cdot 10^5$	$6,0 \cdot 10^5$	$6,0 \cdot 10^1$	0
72	$6,0 \cdot 10^2$	$6,0 \cdot 10^3$	$6,0 \cdot 10^7$	$2,5 \cdot 10^7$	$2,5 \cdot 10^4$	0
240	$6,0 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^4$	$6,0 \cdot 10^5$	$2,5 \cdot 10^5$	$6,0 \cdot 10^2$	0
336	$6,0 \cdot 10^4$	$6,0 \cdot 10^3$	$2,5 \cdot 10^5$	$6,0 \cdot 10^4$	$2,5 \cdot 10^4$	$2,5 \cdot 10^1$

В біоплівці, сформованій за присутності ЧСТА на 240 год та 336 год експозиції було виявлено в 5 та 10 разів менше ЗВБ в порівняно з контролем. Протягом досліджу спостерігалось зростання чисельності ДНБ, яка була найвищою на 72 год. експозиції як в контролі, так і в досліді. Наприкінці досліджу кількість клітин ДНБ в біоплівці за присутності ЧСТА була в 4,2 рази менша порівняно з контролем. За присутності ЧСТА у біоплівці виявлено СВБ тільки на 336 год експерименту.

Таким чином, четвертинна сіль триазиноазепінію впливає на формування біоплівки на поверхні маловуглецевої сталі, змінюючи чисельність бактерій корозійного мікробного угруповання.

Назаркевич Л., Коваль Г., Перетятко Т.

ВПЛИВ ХРОМУ (VI) НА ВІДНОВЛЕННЯ СІРКИ ТА СУЛЬФАТІВ СІРКО- ТА СУЛЬФАТВІДНОВЛЮВАЛЬНИМИ БАКТЕРІЯМИ

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

E-mail: t_peretyatko@franko.lviv.ua

Важливою екологічною проблемою є забруднення довкілля токсичними сполуками хрому. Трьохвалентний хром (Cr (III)) може впливати на реплікацію ДНК, транскрипцію, а також виявляти мутагенну дію. Крім того, Cr (III) може реагувати з сульфгідрильними та карбоксильними групами ферментів, спричиняючи зміни їхньої структури й активності. Одним із основних механізмів резистентності бактерій до хрому є відновлення його шестивалентної форми (Cr (VI)) до Cr (III). Резистентність до хромату пов'язують із пошкодженням систем транспорту сульфатів і зниженням поглинання хрому. Хромвідновлювальні властивості мікроорганізмів мають важливе значення у процесах біоремедіації довкілля. Головною перевагою бактеріальної редукції хромату порівняно з хімічною є відсутність енергетичних затрат і додаткових реагентів.

З Язівського сіркового родовища виділені сірко- та сульфатвідновлювальні бактерії, стійкі до Cr (VI). Внесення у середовище Cr (VI) у концентрації 0,1-1 мм не призводить до суттєвих змін у нагромадженні біомаси й утилізації сульфатів виділеними сульфатвідновлювальними бактеріями. За наявності 5 мМ хрому спостерігається зниження швидкості росту бактерій, а рівень нагромадження ними біомаси зменшується вдвічі. Подальше зростання вмісту Cr (VI) спричиняє відмирання клітин. За відсутності сульфатів у середовищі виділені сульфатвідновлювальні бактерії можуть використовувати Cr (VI) як акцептор електронів, про що свідчить нагромадження біомаси (до 2,2 г/л).

Досліджено вплив різних концентрацій хрому на ріст і відновлення сірки сірковідновлювальними бактеріями. Cr (VI) у концентрації 5 мМ і більше є токсичним для

досліджуваних мікроорганізмів. Ст (VI) також використовується виділеними бактеріями як акцептор електронів.

Виділені хромрезистентні сірко- та сульфатвідновлювальні бактерії розглядаються як перспективні для очищення навколишнього середовища від сполук хрому.

Парасюк О., Мороз О., Борсукевич Б., Клим І., Гнатуш С.

**ОСОБЛИВОСТІ ЗДІЙСНЮВАНОЇ *DESULFOVIBRIO DESULFURICANS*
ДИСИМІЛЯЦІЙНОЇ СУЛЬФАТРЕДУКЦІЇ ПІД ВПЛИВОМ СВИНЦЮ**

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна

E-mail: microbio@franko.lviv.ua

Свинець є одним з найтоксичніших важких металів. Він є синергістом і збільшує токсичність інших металів, інгібує АТФ-азну активність плазматичної мембрани, взаємодіє з фосфоліпідами мембрани і утворює з ними специфічні комплекси. Характер взаємодії мікроорганізмів з металами визначається концентрацією металу, ступенем його токсичності, а також метаболічним потенціалом мікроорганізмів. Зв'язування металів біомасою мікроорганізмів відбувається за механізмами біоаккумуляції або біосорбції. Сульфатвідновлювальні бактерії здатні переносити водень від органічного субстрату на сульфат з утворенням сірководню. Важкі метали можуть зв'язуватися сірководнем біогенного походження і таким чином переходити у менш токсичну для довкілля нерозчинну форму.

Вивчали ріст штамів *Desulfovibrio desulfuricans* *K-45* і *Ya-11* у модифікованому середовищі Кравцова-Сорокіна впродовж 14 діб при 30°С в присутності іонів свинцю у концентраціях: 0,1–1 мМ. Після цього часу спостерігали утворення осаду PbS. Значного впливу свинцю на ріст бактерій обидвох штамів у досліджуваних концентраціях не виявлено. Після 14 діб росту біомаса *K-45* виявилася в межах 2,69±0,02 – 2,88±0,12 г/л (контроль: 1,97±0,18 г/л) ($p \geq 0,05$), *Ya-11*: 2,64±0,02 – 3,07±0,05 г/л (контроль: 1,90±0,11 г/л) ($p \geq 0,05$). Тому, було доцільним перевірити ріст штамів *D. desulfuricans* у присутності іонів свинцю у вищих кількостях: 1–10 мМ. Як показали результати, негативний вплив іонів свинцю у концентраціях понад 3 мМ виявився досить значним. На 4 добу росту у середовищі без іонів металу біомаса *K-45* становила 1,87–1,97 г/л, *Ya-11* – 2,08–2,16 г/л. На цю ж добу у присутності іонів свинцю біомаса *K-45* знижувалася пропорційно зростанню концентрації металу від 1,81±0,03 г/л при 1 мМ до 0,45±0,02 г/л при 10 мМ; біомаса *Ya-11* знижувалася від 2,04±0,06 г/л при 1 мМ до 0,57±0,04 г/л при 10 мМ. На 19 добу росту за концентрації свинцю 10 мМ біомаса *K-45* становила 0,17±0,02 г/л (контроль: 1,66±0,04 г/л) ($p \leq 0,05$), а *Ya-11* – 0,12±0,01 г/л (контроль: 1,63±0,05 г/л) ($p \leq 0,05$).

Досліджували кінетику утворення сірководню та відновлення сульфатів під час росту інтактних та інкубованих (1 год) або вирощених (7 діб) у присутності 3 мМ Pb²⁺ клітин сульфатвідновлювальних бактерій у модифікованому середовищі Кравцова-Сорокіна. Інкубацію клітин проводили у присутності 3 мМ розчину солі металу, оскільки при цій концентрації ріст бактерій виявився значно пригніченим. На 14 добу росту кількість сірководню, утвореного інкубованими із свинцем клітинами *K-45*, становила 1,10±0,08 мМ, *Ya-11* – 1,09±0,04 мМ (контроль: *K-45* – 2,43±0,06 мМ, *Ya-11* – 2,41±0,11 мМ) ($p \leq 0,05$). На цю ж годину росту концентрація сульфатів у середовищі становила у інкубованих зі свинцем бактерій штаму *K-45* – 2,30±0,02 мМ, *Ya-11* – 2,00±0,02 мМ, в контрольних варіантах бактерій відповідно 0,80±0,02 і 0,60±0,02 мМ ($p \leq 0,05$). На 17 добу росту кількість сірководню, утвореного вирощеними у присутності свинцю клітинами *K-45*, становила 0,85±0,02 мМ, *Ya-11* – 0,80±0,03 мМ (контроль: *K-45* – 2,49±0,01 мМ, *Ya-11* – 2,45±0,07 мМ ($p \leq 0,05$)). На цю ж годину росту концентрація сульфатів у середовищі з вирощеними у присутності свинцю клітинами штаму *K-45* становила – 2,85±0,05 мМ, *Ya-11* – 2,96±0,01 мМ, в контрольних варіантах відповідно: 1,65±0,02 і 0,73±0,02 мМ ($p \leq 0,05$).

Павлова Г.

ЕКОЛОГІЯ ФОСФАТТРАНСФОРМУЮЧИХ БАКТЕРІЙ МОРСЬКИХ ПОЛІГОНІВ
ПІВНІЧНО-ЗАХІДНОЇ ЧАСТИНИ ЧОРНОГО МОРЯ

Одеський філіал Інституту біології південних морів ім. О. О. Ковалевського НАН України

вул. Пушкінська, 37, м. Одеса, 65000, Україна

E-mail: anna.pavlova99@gmail.com

Мікроорганізми відіграють визначну роль у кругообігу біогенних елементів, зокрема в кругообігу фосфору. Мікроорганізми здатні трансформувати сполуки фосфору: мінералізувати органічні в неорганічні фосфати, переводити нерозчинні форми фосфату у розчинні, які є більш доступними для споживання організмами, а також імобілізувати фосфор. Ці перетворення здійснюються широким колом мікроорганізмів [Мишустина и др., 1985; Родина, 1965; Gen-Fu, Xue-Ping, 2005; Hupfer et al., 2007].

Об'єктами дослідження були фосфаттрансформуючі бактерії Одеського регіону ПЗЧМ та гирла Дунаю – фосфатрозчинюючі (ФРБ) та фосфатмінералізуючі бактерії (ФМБ). Було досліджено 11 станцій з гирла Дунаю та 14 – з Одеського регіону, по три проби з кожної станції з різних горизонтів (поверхня, дно, донні відкладення). В гирлі Дунаю відбір проб проведений у періоди 03–06.06.08, 16–20.08.08 та 23–27.10.08, у Одеському регіоні ПЗЧМ – 02–05.08.08 та 18–24.10.08. Дослідження з виявлення фосфатмінералізуючих бактерій проведені лише у Одеському регіоні у період 02–05.08.08.

Виявлено позитивну кореляцію між кількістю гетеротрофних бактерій та кількістю ФРБ, яка чітко простежується в гирлі Дунаю по всім горизонтам у всі періоди дослідження. В Одеському регіоні ПЗЧМ у серпні така залежність простежувалась лише в горизонті 0,5 м, а у жовтні, навпаки, вона поступово збільшувалась від поверхневого горизонту до донних відкладень. Найбільша відносна кількість ФРБ виявлена у ґрунті Одеського регіону ПЗЧМ та гирла Дунаю як влітку, так і восени, коливаючись у межах 15 – 42 % . Кількість ФРБ у ґрунті гирла Дунаю в серпні зменшилась у 2,7 рази у порівнянні з червнем. В жовтні цей показник наблизився до рівня червня і склав 41 % від кількості гетеротрофних бактерій. Зменшення відносної кількості ФРБ в узмор'ї Дунаю в серпні також відмічено в горизонті 0,5 м та на дні – відповідно в 2,5 та 1,5 рази, що можна пояснити суттєвим збільшенням обсягу поверхневого стоку з водозбірної площі, яке мало місце в кінці травня – на початку червня. В жовтні, на відміну від червня та серпня, процент ФРБ поступово збільшувався від поверхневого горизонту до ґрунту і складав 9,4, 25 та 41 % відповідно.

Відносна кількість ФРБ в Одеському регіоні ПЗЧМ в серпні в горизонті 0,5 м та на дні не перевищувала одного відсотка від кількості гетеротрофних бактерій. Тоді як в гирлі Дунаю в червні такий показник складав 28% та 15%, а в серпні – 11% та 10% відповідно. Вірогідно, що це пов'язано з річковим стоком Дунаю, до якого потрапляють мінеральні добрива та теригенний матеріал, які є джерелом нерозчинних форм фосфату. В жовтні відносна кількість ФРБ в Одеському регіоні в горизонті 0,5 м та на дні збільшилась у 23 та 14 разів відповідно.

Процент ФРБ поступово зменшується від поверхні до дна, збільшуючись у донних відкладеннях. Проте у ґрунті деяких станцій Одеського регіону ПЗЧМ фосфатрозчинюючі бактерії, як і гетеротрофні бактерії, знайдені не були. Можливо, це пов'язано з глибиною та характером ґрунту в Одеському регіоні.

Проведені дослідження з виявлення фосфатмінералізуючих бактерій в Одеському регіоні у серпні у різних станціях з різних горизонтів показали, що органічні фосфорні сполуки швидко мінералізуються у верхньому горизонті води (0,5 м) та відсутні на дні та в донних відкладеннях.

Процеси фосфатмінералізації та розчинення нерозчинних неорганічних сполук фосфору за участю мікроорганізмів відображають різні сторони кругообігу фосфору і сприяють вивільненню фосфатів з органічних сполук, що веде до збільшення запасів мінерального фосфору, та сприяють переходу нерозчинних сполук фосфору в розчинний стан.

Перегінська Б., Барчук Т., Байляк М.

**РІСТ І ВИЖИВАННЯ ДРІЖДЖІВ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* У ПРИСУТНОСТІ
СПИРТОВИХ ПРЕПАРАТІВ РОДІОЛИ РОЖЕВОЇ**

Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника

вул. Шевченка 57, м. Івано-Франківськ, 76025, Україна

E-mail: bayliak@ukr.net

Серед лікарських рослин особливу групу складають рослини з адаптогенними властивостями, препарати яких збільшують опірність організму до дії несприятливих зовнішніх чинників, виявляючи, перш за все, антистресовий ефект. Було виявлено, що підвищення стійкості до дії стресорів часто супроводжується збільшенням тривалості життя багатьох організмів, тому інтенсивно почалась вивчатись участь рослин з адаптогенними властивостями у сповільненні процесів старіння. Недавніми дослідженнями показано, що препарати, отримані з кореневища родіоли рожевої (*Rhodiola rosea* L.) мають не тільки адаптогенні властивості, а також і геропротекторні. Зручною моделлю для вивчення процесів старіння слугують дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*, які мають нетривалий життєвий цикл і легко культивуються. Метою даної роботи було дослідити здатність спиртових препаратів з кореневища *R. rosea*, продовжувати тривалість життя клітин *S. cerevisiae* при вирощуванні на середовищі з глюкозою.

У роботі використовували штам *S. cerevisiae* YPH250 (*MATa trp1-Δ1 his3-Δ200 lys2-801 leu2-Δ1 ade2-101 ura3-52*). Дріжджі вирощували за умов аерації в живильному середовищі, яке містило 2% глюкози, 2% пептону, 1% дріжджового екстракту і різні концентрації спиртового препарату з кореневища родіоли рожевої, приготованого на 40% етанолі у співвідношенні 1:5 (кореневище: етанол). Як контроль використовували культуру дріжджів, яка замість препарату родіоли рожевої містила відповідну кількість 40% етанолу. Додавання у середовище культивування спиртового екстракту з кореневища *R. rosea* в концентрації 0,5% не впливало на ріст клітин дріжджів. У той же час за присутності 2,5% спиртового препарату *R. rosea*, клітини росли повільніше. У подальших експериментах дріжджі вирощували тільки у присутності 0,5% спиртового препарату з кореневища *R. rosea*.

Для оцінки життєздатності дріжджів були використані два підходи, а саме: кількість життєздатних клітин визначалася за фарбуванням метиленовим синім і за кількістю колонієутворюючих одиниць при посіві на агаризоване живильне середовище. Відсоток живих клітин (тих, які не фарбувалися метиленовим синім) був вищим, починаючи з 7-ї доби культивування, у культурах, які росли у присутності 0,5% спиртового препарату *R. rosea*. Протягом 7–21 доби росту кількість живих клітин у цих культурах була на 15–25% вищою, ніж у контролі. Додавання препаратів родіоли рожевої у середовище культивування також збільшувало репродуктивну здатність клітин *S. cerevisiae*. Так, на 15-у добу росту близько 20% клітин з культур, вирощених у присутності препаратів *R. rosea*, зберігали здатність до колонієутворення, тоді, як в контрольних культурах тільки окремі клітини утворювали колонії на чашках Петрі. Зниження життєздатності клітин порівнювали з вмістом білка у середовищі, який визначали методом Бредфорд. Концентрація білка у середовищі зростала зі збільшенням віку культури дріжджів. Найбільше зростання концентрації білка спостерігалось у середовищі з контрольних культур на 11–19 добу росту, що відповідало суттєвому зниженню кількості життєздатних клітин у цих культурах.

Таким чином, додавання у середовище культивування спиртових препаратів з кореневища *R. rosea* у використаній нами концентрації збільшує хронологічну тривалість життя і репродуктивну здатність клітин *S. cerevisiae* у стаціонарній фазі росту. З огляду на це, дріжджі *S. cerevisiae* можуть бути перспективними модельними об'єктами для з'ясування механізмів геропротекторної дії препаратів *R. rosea* та інших лікарських трав.

Переймибіда Л., Галушка А., Гудзь С.

**ВПЛИВ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ НА АКТИВНІСТЬ АЛКОГОЛЬДЕГІДРОГЕНАЗИ
ТА ІЗОЦИТРАТДЕГІДРОГЕНАЗИ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

E-mail: a_halushka@mail.ru

Досліджено вплив гідроген сульфід у активність алкогольдегідрогенази та ізоцитратдегідрогенази дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Активність алкогольдегідрогенази визначали в клітинах дріжджів, вирощених у аеробних і анаеробних умовах.

При внесенні гідроген сульфід у середовище до ростучої культури спостерігається достовірне підвищення алкогольдегідрогеназної активності клітин, вирощених як за анаеробних, так і за аеробних умов. Низькі концентрації гідроген сульфід підвищували також активність ферменту у безклітинних екстрактах. H_2S концентрацією 20 мМ і більше повністю пригнічував активність алкогольдегідрогенази в безклітинних екстрактах.

Ізоцитратдегідрогеназна активність *S. cerevisiae* інгібувалася гідроген сульфідом як у ростучій культурі, так і в безклітинних екстрактах.

Покиньюброда Т., Пристай М., Єрохін В., Карпенко О.

**ЗМІНА ПРОНИКНОСТІ КЛІТИННИХ МЕМБРАН ПІД ВПЛИВОМ БІОГЕННИХ
ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН**

Інститут фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка НАН України

вул. Наукова, 3а, м. Львів, 79060, Україна

E-mail: bioteh.lviv@ukr.net

Відомо, що поверхнево-активні речовини (ПАР, сурфактанти) сприяють підвищенню проникності клітинних мембран різних мікроорганізмів і при цьому збільшують транспорт багатьох речовин. З іншого боку, ПАР можуть сприяти екскреції токсинів або впливати на периферичну структуру клітини, що зумовлює зміну здатності до адгезії та вірулентності. Сурфактанти, які нині застосовуються, в основному є синтетичними. Тому цікавим було дослідити зміни проникності клітин, що спричинені дією біогенних поверхнево-активних речовин (біоПАР), оскільки інтерес до цього типу сполук як потенційних кандидатів для застосування в різних галузях промисловості значно зріс за останнє десятиліття.

Нами встановлено, що при обробці клітин ряду тестових мікроорганізмів різних таксономічних груп розчинами біоПАР – рамноліпідів, трегалозоліпідів та біокомплексу (комплексу рамноліпідів з полісахаридами) було досягнуто значне підвищення проникності клітинних мембран. Для порівняння було вивчено вплив синтетичних ПАР на проникність мембран. Паралельно з дослідженням вивільнення білка з клітин після обробки розчинами різних поверхнево-активних речовин (збільшення кількості позаклітинного білка) визначали кількість живих клітин у дослідних зразках.

Так, показано, що при використанні додецилсульфату натрію у концентрації 0,05% спостерігається додаткове 50%-не вивільнення білка, що спричиняє антимікробний ефект (відсутність росту на твердому середовищі). За концентрації ДДС 0,01% кількість позаклітинного білка збільшується на 20%, при цьому кількість живих клітин зменшується у 100 раз. Тобто досліджений аніоногенний ПАР спричиняє руйнування клітин і тому не може бути рекомендованим для регулювання проникності мембран мікроорганізмів.

Нейоногенний ПАР TWEEN-80 за концентрації > 1% збільшує кількість позаклітинного білка вдвічі порівняно з контролем. При цьому спостерігається повна загибель клітин. Обробка клітин 0,5%-ним розчином TWEEN-80 вивільняє на 50% більше білка. При цьому кількість життєздатних клітин зменшується у 30 раз.

При використанні рамноліпідів та біокомплексу у концентрації 0,1% (додаткове вивільнення білка 50%) кількість клітин порівнянно з контролем не змінюється, тоді як при концентрації цих ПАР 0,25% , що відповідає 100%-му додатковому вивільненню білка, кількість клітин зменшується тільки в 2 рази.

При використанні трегалозоліпідів як пермеабілізуючих агентів у концентрації 0,01-0,1% додаткове вивільнення білка практично не спостерігається, а використання їх за концентрації > 0,2% вивільняє додатково 20-50% білка з клітин при незмінній кількості життєздатних клітин.

Отже, рамноліпідні ПАР є активними регуляторами проникності клітинних мембран мікроорганізмів за концентрації до 0,1 %, а трегалозоліпід пермеабілізують клітинні мембрани за концентрації > 0,2%, при цьому не зменшуючи життєздатність клітин. Тобто дані біоПАР можна рекомендувати як ефективні пермеабілізатори клітинних мембран і використовувати в сільському господарстві, фармації, медицині та ветеринарії.

Притула І. , Яворська Г.

ВПЛИВ ІОНІВ МАНГАНУ НА РІСТ КУЛЬТУРИ ПУРПУРОВИХ СІРКОБАКТЕРІЙ *LAMPROCYSTIS ROSEOPERSICINA*

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

E-mail: ivanprytula@ukr.net

Манган належить до рідкісних важких металів і є поширеним елементом у земній корі. Через надмірне забруднення середовища внаслідок людської діяльності, у довкілля потрапляє багато важких металів, серед яких і манган, надмірні концентрації якого можуть чинити негативний вплив на біоценози. Відомо, що бактерії здатні нагромаджувати важкі метали у клітинах та зовнішньоклітинних структурах і таким чином зменшувати їхню концентрацію у середовищі. Манган є важливим елементом для метаболізму бактерій, оскільки метаболізується в аеробних і анаеробних умовах. Він, зокрема, входить до складу багатьох ферментів: кінази, ДНК- та РНК-полімерази, фосфатази, естерази, аргінази тощо. Відомо, що манган є необхідним елементом для росту багатьох видів бактерій, хоч кількості металу необхідні для росту пурпурових сіркобактерій невідомі.

Метою наших досліджень було вивчення впливу іонів мангану на ріст пурпурових сіркових бактерій *Lamprocystis roseopersicina*, виділених з водойм Язівського сіркового родовища. Бактерії вирощували протягом 16 діб при температурі 25–28°C за анаеробних умов та оптимальної інтенсивності освітлення у рідкому середовищі Ван Ніля, яке містило іони мангану в концентраціях 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 мМ. Біомасу визначали за мутністю розведеної суспензії клітин на фотоелектроколориметрі КФК-3 ($\lambda=660$ нм, кювета з оптичним шляхом 3 мм).

На першу добу росту біомаса у всіх варіантах була на рівні 0,4-0,5 г/л. Присутність іонів мангану в середовищі культивування у концентраціях 0,5-2,0 мМ стимулювала ріст досліджуваних бактерій і на 16 добу росту біомаса збільшувалася майже у 2 рази, порівняно з контролем. За концентрації 2,5 мМ іонів мангану не спостерігали стимулювання росту культури *L. roseopersicina*.

Отже, можна припустити, що присутність іонів мангану стимулює ріст пурпурових сіркових бактерій *L. roseopersicina*, однак високі концентрації його інгібують.

Романова К., Кашуба Я., Ямборко Н.

ВПЛИВ ПЕСТИЦИДУ ГЕКСАХЛОЦИКЛОГЕКСАНУ НА ПАРАМЕТРИ РОСТУ МІКРООРГАНІЗМІВ-ДЕСТРУКТОРІВ У КУЛЬТУРАЛЬНІЙ РІДИНІ

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

вул. Акад. Заболотного, 154, Київ – 143, 03143, Україна

E-mail: cenoz@serv.imv.kiev.ua; wolhal@ukr.net

Масштаби антропогенного забруднення навколишнього середовища за рахунок використання пестицидів у наш час постійно зростають. Перш за все, це використання синтетичних

органічних сполук, багато з яких мають токсичні властивості. Одним із поширених забрудників є інсектицид гексахлорциклогексан (ГХЦГ).

Співробітниками відділу загальної і ґрунтової мікробіології Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного було виділено із місць локального забруднення пестицидами мікробну асоціацію з робочою назвою Мікрос. З асоціації Мікрос виділено 8 стійких штамів мікроорганізмів-деструкторів ГХЦГ і визначено, що ізоляти №№ 3, 4, 4а, 5, 6, 7, 9, 9а належать до виду *Pseudomonas* sp. Усі виділені культури мають здатність розкладати ізомери ГХЦГ.

Для повного розщеплення молекули ГХЦГ необхідна діяльність кількох видів мікроорганізмів, оскільки відомо, що один вид мікроорганізмів не здатен продукувати всі необхідні ферменти для деструкції пестициду. Постає питання пошуку найбільш перспективних мікроорганізмів-деструкторів. Ефективність і швидкість процесу мікробної деградації пестицидів можливо підвищити, використовуючи спеціально підібрані консорціуми мікроорганізмів з високою активністю та питомою швидкістю росту.

Тому метою нашого дослідження було вивчення динаміки та питомої швидкості як параметрів росту ізолятів *Pseudomonas* sp., що виділені з асоціації Мікрос, *Bacillus megaterium* IMB B-7168 та власне асоціації Мікрос для відбору найбільш перспективних культур-деструкторів.

Для оцінки впливу ГХЦГ на параметри росту виділених з ґрунту штамів *Pseudomonas* sp. досліджували інтенсивність їх росту на мінеральному середовищі без ГХЦГ і на середовищі із 2 РД (робочими дозами) пестициду. Накопичення біомаси штамів визначали впродовж 50 годин росту. Характер росту культур *Pseudomonas* sp. 3, *Pseudomonas* sp. 4, *Pseudomonas* sp. 5, *Pseudomonas* sp. 9 і *Pseudomonas* sp. 9а в умовах із внесенням пестициду (дослід) і без нього (контроль) був подібний. Накопичення біомаси зазначеними вище штамми за присутності ГХЦГ істотно не відрізнялось від контролю. У штаму *Pseudomonas* sp. 6 за дії пестициду спостерігали подовження лаг-фази на 23 години, проте впродовж культивування накопичення біомаси у дослідному варіанті зростало і наприкінці досліді (40-48 годин культивування) статистично не відрізнялося від контролю. У динаміці росту штаму *Pseudomonas* sp. 7 також спостерігали гальмування пестицидом росту культури до 40 годин культивування, проте під час стаціонарної фази росту (42-48 годин культивування) різниці у накопиченні біомаси між контрольним і дослідним варіантами не відмічено.

Найвищу питому швидкість росту спостерігали у *B. megaterium* IMB B-7168 - 0,2 год⁻¹, у *Pseudomonas* sp. 6 – 0,18 год⁻¹. Штами *Pseudomonas* sp.: №№ 3, 4, 5 і 9а характеризувались швидкістю росту $\mu = 0,12 - 0,15$ год⁻¹. Низька швидкість росту відмічена у штамів *Pseudomonas* sp. 7а і 4а, а також у асоціації Мікрос.

Отже, накопичення біомаси всіх досліджених штамів за присутності пестициду наприкінці досліді не відрізнялося від контролю, що підтверджує їхню високу стійкість до ГХЦГ.

Рудь Ю.

ДОСЛІДЖЕННЯ РЕПРОДУКЦІЇ ІРИДОВІРУСА ЗЯБРОВОГО НЕКРОЗУ КОРОПА *IN VITRO*

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

вул. Володимирська 60, Київ, 01033, Україна

E-mail: rudziknew@ukr.net

Іридовіруси – великі, ДНК-вмісні віруси, які ізолювані від комах, риб, амфібій та рептилій [Бучацький, 1981]. До цього часу багато нових іридовірусів ще недостатньо вивчені, не класифіковані і вважаються емерджентними (віруси, які з'явилися нещодавно, від англ. emerging). В даний час в багатьох вірусологічних лабораторіях світу проводиться ідентифікація цих вірусів, яка включає вивчення фізико-хімічних властивостей віріонів, аналіз послідовностей їх ДНК та розробку діагностикумів.

За останні 10–15 років в умовах аквакультури та в природних водоймах було ідентифіковано велику кількість іридовірусів риб. Ізоляція цих вірусів тісно пов'язана із збільшенням

обсягів ведення світової аквакультури. В умовах аквакультури іридовіруси спричиняють масову загибель риб і наносять великі збитки промислового рибництва [Essbauer, Ahne, 2001].

Іридовірус зябрового некрозу коропа (ІЗНК) спричиняє широко розповсюджену хворобу – бронхіонекроз коропа. В умовах аквакультури цей іридовірус призводить до значних економічних втрат, які становлять 40-60%.

Одним з ключових методів ідентифікації вірусів є дослідження їх репродукції *in vitro* в чутливих культурах клітин. Метою нашої роботи було дослідити репродукцію ІЗНК на перемивній культурі клітин.

При роботі з вірусом *in vitro* використовували культуру клітин EPC (epithelioma carp papulosum). Культуру клітин культивували на поживному середовищі RPMI з додаванням інактивованої ембріональної телячої сироватки (ЕТС) та антибіотиків. Щоденне спостереження проводили протягом 7 днів. Фіксували наявність цитопатичної дії (ЦПД) в дослідних культурах при її відсутності в контролі. Ступінь ЦПД визначали під мікроскопом за морфологічними ознаками клітин. Очистку ІЗНК проводили в градієнті щільності сахарози (30 %) на ультрацентрифугі Beckman L5-50B в роторі SW-40 при 23000 об/хв протягом 1 год. Вірус контрастували 1 %-им розчином ураніацетату та вивчали на електронному мікроскопі EM-125.

Цитопатична дія ІЗНК на клітини EPC полягала в їх заокругленні й відставанні від субстрату. Спостерігали два типи паталогічних змін інфікованих клітин: заокруглені клітини та утворення прозорих круглих клітин великих розмірів. Утворення інфікованих клітин першого типу (заокруглені клітини) відбувалось внаслідок скорочення цитоплазматичних відростків, в результаті чого клітини набували сферичної форми. В світловому мікроскопі такі клітини мали темне забарвлення. Діаметр інфікованих клітин другого типу (прозорі круглі клітини великих розмірів) був дещо більший, ніж у нормальних клітин. Вони мали заокруглену форму і, як правило, декілька непрозорих цитоплазматичних включень. Цитоплазматичні включення локалізувались ближче до цитоплазматичної мембрани (ЦПМ).

ІЗНК спричиняв часткову деструкцію моношару клітин EPC. На периферії таких спустошених ділянок моношару інколи спостерігалось утворення багатоядерних клітин (симпластів). Цикл репродукції ІЗНК, адаптованого до клітин EPC, дорівнював 120 год. Інфекційний титр вірусу становив 10^4 TCID₅₀ мл⁻¹. Електронно-мікроскопічні дослідження виявили вірус гексагональної форми діаметром 200 нм.

Руднєва Т., Шевченко Т.

КОНТРОЛЬ НАСІННЄВОЇ ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ У РОСЛИН РОДИНИ *CUCURBITACEAE*

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

вул. Володимирівська, Київ, 6401033, Україна

E-mail: tatuanaru@bigmir.net

До найпоширеніших вірусних патогенів, що уражують представників родини Гарбузових (*Cucurbitaceae*) та мають насіннєвий шлях передачі належать вірус огіркової мозаїки (*Cucumber mosaic virus*, CMV) роду *Cuscutovirus* родини *Bromoviridae*, вірус жовтої мозаїки цукіні (*Zucchini yellow mosaic virus*, ZYMV) роду *Potyvirus* родини *Potyviridae*, вірус мозаїки кабачка (*Squash mosaic virus*, SqMV) роду *Comovirus* родини *Comoviridae* та вірус зеленої крапчастої мозаїки огірка (*Cucumber green mottle mosaic virus*, CGMMV) роду *Tobamovirus*.

Насіннєвий шлях передачі для даних вірусів є викокоефективним і тому особлива увага має приділятися передпосівному обстеженню насіння. Вчасна діагностика вірусних інфекцій дасть можливість провести обробку інфікованого насіння і, як наслідок, зменшити втрати врожаю.

Метою роботи була перевірка різних сортів насіння рослин родини *Cucurbitaceae* на можливість їх вірусної контамінації.

Було протестовано продукцію 11 фірм, що займаються виробництвом насіння: насіння 32 сортів огірків, 7 сортів динь, 9 сортів кавунів та 5 сортів кабачків. Вірусні антигени детектували методом непрямого та сандвіч- імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням

діагностичних антисироваток, що були надані проф Т.Кюне (Ашерслебен, Німеччина), та проф. Е.Лекоком (INRA, Франція).

За допомогою імуноферментного аналізу показана присутність трьох вірусних антигенів у насінні, а саме: CGMMV, CMV та ZYMV. За результатами проведених досліджень найбільш контамінованим виявилось насіння огірків, оскільки у 9 з 32 перевірених сортів було знайдено антигени CGMMV. Інфікованими виявилися наступні сорти: «Малиш F1», «Парад», «Водограй», «Лялюк», «Кустовий», «Засолочний», «Фенікс», «Паризький корнішон» та «Джерело». Результати ІФА були підтверджені даними електронної мікроскопії: у полі зору спостерігались паличкоподібні віріони розміром 280–300x15 нм, що співпадали за розмірами та морфологією з CGMMV.

Вірус огіркової мозаїки (CMV) детектували в наступних 5 сортах насіння огірків: «Парад», «Засолочний-65», «Далекохідний-27», «Міг» та «Ніжинський».

Вірус жовтої мозаїки цукіні (ZYMV) був присутній в 4 сортах насіння огірків: «Лялюк» (2 сорта різних фірм), «Кустовий» та «Засолочний-65».

Важливо відмітити, що при перевірці вірусінфікованим виявилось лише насіння огірків, а у випадку насіння кабачків, динь та кавунів випадків вірусної контамінації зафіксовано не було, окрім поодинокого інфікування насіння динь сорту «Колхозниця» вірусом жовтої мозаїки цукіні.

Саббарі А.

ПРОТИРАКОВІ ВЛАСТИВОСТІ ЙОГУРТУ, ЗБАГАЧЕНОГО LACTOBACILLUS BULGARICUS, STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS, LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS, BIFIDO BIFIDUM

Національний технічний університет України «Київський Політехнічний Інститут»

просп. Перемоги, м. Київ, 3703056, Україна

E-mail: sabbagi@ukr.net

За статистичними даними рак молочної залози займає перше місце у світі. 100% ефективного засобу лікування раку в наш час не існує.

Мета дослідження – експериментально перевірити гіпотези позитивного профілактичного впливу бактерій *L.bulgaricus*, *S.thermophilus*, *L.acidophilus* та *B.bifidum* на жирній основі молока на ракові клітини молочної залози на мишиній моделі. Для експериментальної частини роботи було відібрано миші жіночої статі виду BALB/c з лабораторії Національного Інституту Луї Пастера (Тегеран, Іран) та розділено на 3 групи. У молочну залозу їм ввели ін'єкцію ракових клітин ATCC 4T1 ($1,4 \times 10^4$ клітин/мл). Мишей годували збагаченим йогуртом 28 днів. Експеримент тривав 35 днів.

Визначали показники TNF- α , IFN- γ , IL-10, IL-4, IL-6, цитокинів. На 27 день після введення ракових клітин, клітини молочної залози були відокремлені механічно та інкубовані у 0,05% розчині протеазу/колагеназу середовища середнього RPMI 1640 з 10% ембріональною телячою сироваткою при +37°C та перемішувались протягом 40 хв. Потім клітини були зібрані та промиті у RPMI 1640. Концентрат імунних клітин був отриманий взаємодією з градієнтом перколю (100% до 55% до 30%), центрифугований при 800g протягом 30 хв та відновлений з шару між 100% та 55%. Клітинну суспензію (20 μ l) вмішували у чарунки імунофлуоресцентної пластини та фіксували формаліном. Далі виокремлювали елементи з фіксованих клітин. Клітини інкубувались у 1% блокувальному розчині телячої сироватки альбуміну/фосфатно-сольового розчину (ФСР), промивалися в ФСР та інкубувалися у звичайній козиній сироватці (концентрація 1×10). Апоптоз визначали виходячи з наявності розривів ланцюгів ДНК. Статистичний аналіз апоптичних та здорових клітин проводився за допомогою пакету програмного забезпечення SigmaStat.

Отримані результати TNF- α : К.г. – 13 ± 1^{bcd} , 2-д.г. – 11 ± 3^{bd} , 7-д.г. – 13 ± 1^{bcd} . IFN- γ : К.г. – $12 \pm 4b$, 2-д.г. – $12 \pm 4bd$, 7-д.г. – 17 ± 5^{abc} . IL-6: К.г. – $23 \pm 4abd$, 17 ± 3^d , 7-д.г. – 4 ± 1^c

IL-4: К.г. – $10 \pm 3^{\text{ce}}$ 2-д.г. – $10 \pm 1^{\text{ce}}$ 7-д.г. – $6 \pm 1^{\text{e}}$ IL-10: К.г. – $8 \pm 2^{\text{b}}$ 2-д.г. – $9 \pm 2^{\text{bc}}$ 7-д.г. – $12 \pm 2^{\text{eb}}$. Даний мікробіологічний ланцюг виявився здатним запобігти розвитку трансплантованій фібросаркоми у мишиній моделі дослідження.

Сай Ю., Кушкевич І., Гнатуш С.

**АКУМУЛЮВАННЯ Cu^{2+} БАКТЕРІЯМИ *THIOCAPSA* SP. ТА *LAMPROCYSTIS* SP.
ЗА РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ МЕТАЛУ У СЕРЕДОВИЩІ**

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
E-mail: Ivan_Kushkevych@ukr.net

Метали в окисненій формі можуть взаємодіяти з мікробною клітиною. Їх вплив двоякий. Нестача металів у середовищі призводить до порушення функціональної діяльності ферментів бактеріальної клітини, яким вони необхідні як мікроелементи. Надлишкова їх кількість інактивує ферменти, в першу чергу мембранозв'язані. Причини інактивації ферментів можуть бути різними. Метали можуть зв'язуватися з активним центром, витіснити інші метали та змінювати конформацію білкової молекули ферменту. Механізм токсичного впливу важких металів залежить від природи сполуки і від досліджуваного організму. Так, наприклад, Купрум зв'язується, в основному, з клітинною поверхнею і викликає її ушкодження.

Метою нашої роботи було дослідження акумуляційних властивостей пурпурових сіркобактерій за впливу різних концентрацій CuSO_4 .

Культури *Thiocapsa* sp. та *Lamprocystis* sp. відмивали 0,9%-им розчином NaCl та інкубували протягом трьох годин за таких концентрацій CuSO_4 : 5, 10, 15, 20 та 25 мМ. У контроль солі металу не вносили. Після інкубації через першу, другу та третю години відмиті клітини руйнували на ультразвуковому гомогенізаторі УЗДН-2Т при 22 кГц протягом 5 хв при 0°C. Незруйновані клітини та їхні уламки відокремлювали центрифугуванням при 12-15 тис. об/хв при 4°C протягом 30 хв.

Концентрацію акумульованого металу визначали на іонетрі (pH-150M) за допомогою купрумселективного електрода, використовуючи калібрувальну криву.

Бактерії *Thiocapsa* sp. поглинали іони Купруму упродовж трьох годин інкубування, причому зі збільшенням концентрації металу у середовищі акумуляція зростала. Максимум поглинання Купруму, яке становив 0,14 ммоль/г клітин, відмітили за концентрації металу 25 мМ на третю годину інкубування.

Обернену залежність спостерігали за впливу іонів даного металу на бактерії *Lamprocystis* sp. Поглинання Cu^{2+} клітинами бактерій зростало за низьких концентрацій CuSO_4 (5–15 мМ) і зменшувалося – за високих (20–25 мМ). Акумуляція Купруму була максимальною на першу годину за концентрації 20 мМ ($5,97 \pm 1,36 \cdot 10^{-5}$ ммоль/г клітин), після чого вона зменшувалася.

Савіч В., Звір Г.

ЕКОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

Розвиток алергічних захворювань часто пов'язаний з дією таких екзогенних чинників, як холод, УФ-опромінення, емоційні стреси, лікарські речовини, вірусні інфекції. Цьому сприяють багатоманітність та багатокомпонентність виробничих подразників, комплексний вплив на організм різних хімічних, фізичних, біологічних, професійних факторів. Шлях потрапляння алергена в організм зазвичай визначає форму захворювання (наприклад, при інгаляційному потраплянні розвиваються алергічні захворювання органів дихання). Антропогенне забруднення навколишнього середовища значною мірою спричинене важкими металами. Поруч з великими промисловими підприємствами утворюються зони з підвищеним вмістом свинцю, ртуті, кадмію, нікелю та інших токсичних мікроелементів. Поширеність алергічних захворю-

вань на забруднених територіях вища, ніж на відносно “чистих”. Відомі випадки, коли загострення бронхіальної астми виникало практично у 90% хворих на фоні значного підвищення забруднення повітряного середовища місцевості. Деякі техногенні забруднювачі, навіть їхні підпорогові рівні, можуть бути клінічно важливими, якщо збільшується бронхіальна реактивність, наприклад, при епідемії грипу, фізичному переохолодженні, в осіб зі спадковою гіперреактивністю бронхів. Серед антропогенних чинників значна роль належить і радіаційній дії та забрудненню довкілля радіонуклідами внаслідок діяльності атомних електростанцій. Радіонуклідне забруднення сприяє підвищенню імуногенності побутових алергенів шляхом зміни їхньої структури.

Клімат та умови життя населення мають також значний вплив на наявність та концентрацію у довкіллі великої кількості екзоалергенів. Вологість повітря як екологічний фактор сприяє значній активації пліснявих грибів. Часті та сильні вітри, висока температура повітря, сонячна радіація призводять до зростання концентрації як природних алергенів, так і екологічних забруднювачів, що викликає у населення гіперчутливість з різними клінічними проявами.

Метою роботи було дослідження поширеності захворювання людей на бронхіальну астму серед населення Рівненської області у 2006–2007 р.р.

Результати досліджень свідчать про деяке зростання захворюваності на бронхіальну астму серед населення Рівненської області у 2007 р. порівняно з 2006 р. Найвищий показник поширеності цього захворювання у 2006–2007 р.р. відмічено у Березнівському (5,7 та 5,8 випадків на тисячу населення), Демидівському (5,3 та 5,0), Корецькому (4,3 та 4,5), Радивилівському (4,2 та 4,3), Рівненському (5,6 та 5,7) районах та містах Рівне (6,0 та 6,0), Кузнецовськ (4,8 та 5,1), Дубно (4,5 та 4,9). Підвищений рівень захворюваності на бронхіальну астму у цих районах Рівненської області пов'язаний, очевидно, з комплексною дією природних та антропогенних факторів, а саме підвищеним рівнем вологості, присутністю промислових підприємств (сірникова фабрика, цементний завод, склозавод), а також впливом радіації внаслідок діяльності Рівненської АЕС.

Савка Ю., Галушка А., Гудзь С.

ВПЛИВ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ НА ШВИДКІСТЬ ПОГЛИНАННЯ КИСНЮ КЛІТИНАМИ БАКТЕРІЙ І ДРІЖДЖІВ

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

E-mail: julija_@ukr.net

Досліджено вплив гідроген сульфідів на швидкість поглинання кисню клітинами аеробних бактерій *Bacillus subtilis* і дріжджів *Pichia guilliermondii*, факультативно анаеробних бактерій *Escherichia coli* та дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, а також анаеробних фотосинтезувальних бактерій *Chlorobium limicola*.

У бактерій *C. limicola* поглинання кисню було практично відсутнім як за наявності, так і за відсутності гідроген сульфідів у середовищі.

У бактерій *B. subtilis* гідроген сульфід спричиняв зменшення швидкості поглинання кисню. Подібна дія спостерігалася і на дріжджі *P. guilliermondii*.

При дії гідроген сульфідів на *S. cerevisiae* відбувалося значне зменшення швидкості поглинання O_2 при концентрації H_2S 10 мМ. При концентрації цієї сполуки 20 мМ швидкість поглинання O_2 була більшою, ніж при 10 мМ, проте меншою, ніж у контролі. При збільшенні концентрації H_2S до 30 мМ спостерігалася повторне зменшення швидкості поглинання кисню клітинами дріжджів.

У *E. coli* гідроген сульфід спричиняв лише незначні зміни швидкості поглинання кисню.

Таким чином, у більшості досліджених аеробних мікроорганізмів гідроген сульфід пригнічує поглинання кисню, що, очевидно, пов'язано з інгібуванням ферментів, які беруть участь у диханні.

Шаргородська К.

**АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ ТА АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ ШТАМІВ
ЛАКТОБАЦИЛ ДО ТА ПІСЛЯ ЗБЕРІГАННЯ У ЛЮФІЛІЗОВАНОМУ СТАНІ**

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова

вул. Дворянська, 2, м. Одеса, 65026, Україна

E-mail: jamborko@mail.ru

Останнім часом виріс інтерес багатьох дослідників до молочнокислих бактерій. Це зумовлено різноманітними властивостями, які дозволяють використовувати їх в різних областях народного господарства, зокрема для створення дієтичних продуктів харчування і пробіотичних препаратів. Пробіотичні штами повинні відповідати ряду вимог, якими є адгезивна активність мікроорганізмів, здатність до утворення біологічно-активних речовин, стійкість до дії фізико-хімічних факторів, антибіотиків тощо.

Метою даної роботи було визначення резистентності штамів бактерій роду *Lactobacillus* до дії антибіотичних препаратів і антагоністичної активності до умовно-патогенних бактерій.

У роботі основними матеріалами досліджень були штами чистих культур *L. fermentum* 25 та *L. plantarum* 1005, виділених у здорових дітей-мешканців м. Одеси, на початку виділення та після зберігання у ліофілізованому стані в Колекції морських та практично корисних для екологічної біотехнології штамів мікроорганізмів кафедри мікробіології і вірусології ОНУ імені І. І. Мечникова. Резистентність до 34 антибіотиків різного спектру дії визначали методом дифузії в MRS агар з використанням стандартних паперових дисків. Антагоністичну активність до штамів *Escherichia coli* tag 2, *E. coli* BE, *Bacillus subtilis* ОНУ-24, *Staphylococcus aureus* P-209 визначали методом агарових блоків.

При вивченні резистентності штамів лактобацил до початку та після зберігання встановлено, що досліджені штами характеризувалися досить високою стійкістю до більшості використаних антибіотиків, взятих у дослід у терапевтичних концентраціях. Показано, що усі штами були високорезистентними до амфотерицину В та поліміксину. Високий рівень резистентності спостерігався також до стрептоміцину, гентаміцину та олеандоміцину.

Середній рівень резистентності лактобацили проявляли до ріфампіцину, цефоперазону, левоміцетину. Низький рівень резистентності спостерігався до іміпенему та кліндаміцину.

При вивченні антагоністичної активності штамів лактобацил встановлено, що дана ознака була притаманна дослідженим штамам, однак ступінь активності залежав від штаму лактобацил і від штаму індикаторного мікроорганізму.

Штами лактобацил проявляли високу антагоністичну активність до *E. coli* tag 2. Що стосується *E. coli* BE, то лактобацили виявляли середню антагоністичну активність.

Низька антагоністична активність даних штамів спостерігалася до *Bacillus subtilis* ОНУ-24 і *Staphylococcus aureus* P-209.

Шоляк К., Яцишин В.

**ОПТИМІЗАЦІЯ УМОВ НАДСИНТЕЗУ ФЛАВІНОВИХ НУКЛЕОТИДІВ
У ДРІЖДЖІВ *CANDIDA FAMATA***

Кафедра мікробіології, Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

Відділ молекулярної генетики і біотехнології, Інститут біології клітини НАН України

вул. Драгоманова, 14/16, м. Львів 79005, Україна

E-mail: Sholjak@gmail.com

Флавінові нуклеотиди (флавінмононуклеотид; ФМН і флавінаденіндинуклеотид; ФАД) є коферментами флавопротеїнів, які каталізують реакції, важливі для основних метаболічних процесів (аеробне і анаеробне дихання, фотосинтез, денітрифікація, репарація ДНК, біоломінесценція). Флавопротеїни залучені у метаболізм вуглеводів, ліпідів, білків, синтез вітамінів

B₁₂ і B₆, а також у метаболізм заліза. У промислових масштабах ФМН отримують шляхом фосфорилування рибофлавіну. ФАД отримують за допомогою гриба *Eremothecium ashbyii* або хімічним синтезом з АМФ і ФМН, або АДФ і рибофлавіну. Синтезовані хімічним способом препарати ФМН і ФАД містять побічні продукти і є дорогими. Препарати флавінових нуклеотидів, отримані біотехнологічним методом, можуть знайти застосування як лікарські засоби, як реактиви високої чистоти, як барвники, як компоненти біолоюмінесцентного аналізу тощо.

Жоден із відомих сьогодні природних мікробних продуцентів флавінів, не здатний до утворення флавінових нуклеотидів у великих кількостях. Спроби отримати надсинтетичні флавінових нуклеотидів за допомогою методів класичної генетики не були успішними, тому були застосовані методи генетичної інженерії. Сконструйовано штами дріжджів *Candida famata*, у яких замінено нативні промотори генів *FMN1* (кодує рибофлавінкіназу) або *FAD1* (кодує ФАД-синтетазу) на сильний конститутивний промотор *TEF1* (фактор елонгації трансляції 1α). Такі штами мають підвищені активності ферментів, що каталізують утворення флавінових нуклеотидів, та нагромаджують ФМН і ФАД у культуральному середовищі. Однак кількість флавінових нуклеотидів, синтезованих сконструйованими штамми, є недостатньою для їх використання у промислових масштабах. Одним із підходів, які використовують для покращання продуцентів, є оптимізація умов культивування.

Мета даної роботи полягала у визначенні оптимальних компонентів середовища для надсинтезу ФМН і ФАД у рекомбінантних штамів дріжджів *C. famata* № 13-76 та № 5 відповідно. Для виявлення складових, суттєвих для синтезу цих нуклеотидів, було використано методи математичного планування експериментів: двофакторний аналіз Плакетта-Бермана (відбір значущих факторів) та центральний композиційний аналіз (знаходження оптимального співвідношення найістотніших компонентів на фоні деяких постійних рівнів відсіяних факторів).

Для оптимізації умов надсинтезу використовувались компоненти двох концентрацій, серед яких складові середовища Беркгольдера, інгібітори фосфатаз та деякі інші компоненти (сахароза, сечовина, K₂HPO₄, MgSO₄, CaCl₂, (NH₄)₆Mo₇O₂₄, ZnSO₄, CuSO₄, MnSO₄, CoCl₂, сіль Мора, ацетат натрію, дріжджовий екстракт, BeSO₄, NaF). Для визначення оптимального складу середовища для синтезу ФАД, замість сечовини як джерела азоту використовували (NH₄)₂SO₄ та гліцин, а також аденін як донор аденілової частини.

Статистичний аналіз показав, що факторами, істотними для надсинтезу як ФМН так і ФАД є K₂HPO₄, CuSO₄ та дріжджовий екстракт. CaCl₂ та (NH₄)₆Mo₇O₂₄ істотно впливали лише на синтез ФМН, а джерела азоту та аденін – лише на синтез ФАД.

Таким чином, внаслідок проведених досліджень, було відпрацьовано оптимальне співвідношення компонентів середовища для біосинтезу флавінових нуклеотидів. У результаті оптимізації складу середовища продукція ФМН і ФАД збільшилась у 1,5-2 рази.

Скобало М. В., Яворська Г. В.

РІСТ БАКТЕРІЙ *CHLOROBIVUM LIMICOLA* У ПРИСУТНОСТІ ІОНІВ ЦИНКУ

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

E-mail: marta_skob@ukr.net

Важкі метали – одні з основних хімічних забруднювачів навколишнього середовища. Одним з них є цинк, який діє на людей як сильна отрута, навіть у малих концентраціях. Відомо, що мікроорганізми здатні акумулювати іони важких металів у клітині, адсорбувати їх на поверхні або мобілізувати, тобто переводити у розчинний стан. Зокрема, гриб *Aspergillus niger* переводить із гірських порід у розчин до 80% цинку. Дріжджі *Rhodotorula glutinis* і бактерії *Escherichia coli* здатні накопичувати у високих концентраціях низку металів, включаючи і цинк. Відношення зелених сіркових бактерій до наявності у середовищі іонів цинку не з'ясовано.

Фотосинтезувальні сіркові бактерії *Chlorobium limicola* Ya 2002, виділені з водойм Язівського сіркового родовища, вирощували протягом 16 діб у рідкому середовищі при температурі 20–25°C за анаеробних умов. Освітлення при вирощуванні культури зелених сіркових бактерій було цілодобове, його інтенсивність складала 40 лк.

Для визначення впливу іонів цинку у культуральне середовище вносили цинк сульфат у концентраціях 2,5; 3,0; 3,5; 4,0 і 5,0 мМ. Проби для визначення біомаси відбирали на 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14 та 16 доби. При вирощуванні бактерій у контрольному середовищі (без іонів цинку) на шістнадцяту добу росту біомаса становила $5,10 \pm 0,02$ г/л. При додаванні до середовища солі металу у концентрації 2,5 мМ біомаса клітин протягом досліджуваного часу зменшувалась у 4,7 рази. При концентрації 3 мМ біомаса знизилась на 34% відносно контролю. Найбільш пригнічуючий вплив іонів даного металу виявляли при концентрації 5 мМ. Так, на шістнадцяту добу біомаса становила лише $0,74 \pm 0,01$ г/л.

Отже, із збільшенням концентрації цинк сульфату у середові культивування, даний метал виявляє інгібуючий вплив на ріст фотосинтезувальних зелених сіркових бактерій *Chlorobium limicola* Ya2002.

Скочилас Н., Колісник Я.

ВИВЧЕННЯ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ КОМПОНЕНТІВ ЛІКАРСЬКОГО СИРОПУ “БРОНХОФЕН”

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

E-mail: nskochelyas@mail.ru

Стерильність і мікробіологічна чистота необхідні для безпечного застосування лікарських засобів. Тому мікробіологічний контроль фармацевтичної продукції є важливим для своєчасного виявлення контамінованих препаратів, а також для профілактики побічних реакцій та захворювань, які можуть виникати у разі їх використання. Результати досліджень лікарських засобів за мікробіологічними показниками повинні бути максимально точними і надійними. Для уникнення хибних результатів при контролі препаратів, потрібно враховувати фактори, які можуть їх спричиняти. Наприклад, при виконанні контрольних досліджень лікарських засобів без фактичних даних про наявність чи відсутність антимікробної дії препарату чи його компонентів виникає великий ризик отримання псевдонегативних результатів аналізів.

Метою нашої роботи було визначення антимікробної дії компонентів, які входять до складу сиропу “Бронхофен”. Даний лікарський засіб включає такі сполуки як фенспірид гідрохлорид, екстракт кореня солодки, сорбат калію, натрію сахаринат, барвник оранжевий, ванілін, ароматизатор мед-липа, метилпарагідроксibenзоат, пропілпарагідроксibenзоат.

Дослідження проводили мікробіологічним методом, описаним у ДФУ 2.6.12, 2.6.13, використовуючи наступні тест-штами мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Salmonella abony* CIP 8039, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 885-653, *Aspergillus niger* ATCC 16404. Робочу суспензію мікроорганізмів, яка містила близько 100 КУО/мл готували методом послідовних десятикратних розведень у буферному розчині з натрію хлоридом і пептоном. Підготовку досліджуваних зразків проводили наступним чином: поміщали 1 г речовини у мірний посуд і доводили до 10 мл приготованою робочою суспензією тест-мікроорганізму. Із підготованих зразків висівали по 1 мл на чашки Петрі з відповідним поживним середовищем. Для виявлення росту суміші тест-штамів мікроорганізмів 10 мл зразка, який містив по 100 КУО бактерій, вносили у відповідні поживні середовища. Після чого інкубували при температурі $32,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$ (бактерії) та $22,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$ (гриби). Для визначення вихідного мікробного навантаження дослідження проводили аналогічно за винятком внесення зразків речовин.

Під час досліджень виявлено, що сироп “Бронхофен” і такі його компоненти як екстракт кореня солодки, натрію сахаринат, барвник оранжевий, ароматизатор не володіли ні

антибактеріальною, ні протигрибковою дією, оскільки в зразках з додаванням цих сполук спостерігався ріст досліджуваних мікроорганізмів, причому їхня кількість майже не відрізнялась від такої в контролі. Проте сорбат калію пригнічував ріст *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. abony*, *A. niger*, *C. albicans*, фенспіриду гідрохлорид – *B. subtilis*, *A. niger* та суміші тест-мікроорганізмів. А ванілін, метилпарагідроксibenзоат, пропілпарагідроксibenзоат володіли протимікробною і протигрибковою дією відносно всіх досліджених мікроорганізмів.

Данкевич Л., Калакура М., Скрипка І.

**МІКРОБІОЛОГІЧНА СТАБІЛЬНІСТЬ ДЕСЕРТНИХ ВИРОБІВ
З НЕТРАДИЦІЙНИМ СКЛАДОМ**

Міжнародний університет розвитку людини "Україна"

E-mail: ldankevich@ukr.net

У сучасних умовах одним із найбільш розповсюджених ендокринних захворювань в світі є цукровий діабет. Асортимент діабетичних десертних виробів, які виробляються в Україні, дуже обмежений і потребує перебудови: покращення органолептичних властивостей, підвищення харчової та біологічної цінності. На думку багатьох дослідників, з усіх цукрозамінників за низкою показників найбільш доцільним є використання фруктози.

Одними зі складових виробництва десертних виробів також є структуроутворювачі. Традиційно у якості згущувача у харчовій промисловості використовують желатин, який має недостатньо високу функціональну і харчову цінність. Сьогодні на українському ринку широко представлені структуроутворювачі різного походження. У зв'язку з цим, попередньо, нами було відібрано найбільш поширені в Україні структуроутворювачі та розроблено технологію десертних виробів з додаванням ксампану, кон'ячного маннану та фруктози для хворих на цукровий діабет.

Відомо, що порушення санітарних норм і правил при приготуванні та реалізації продукції харчування може стати причиною виникнення різноманітних інфекційних захворювань. вміст у харчових продуктах вітамінів, вуглеводів та інших поживних речовин сприяє не тільки збереженню, а і розмноженню різних мікроорганізмів, яке призводить до непридатності для споживання харчових продуктів і, як наслідок, до харчових отруєнь. Десертні вироби найбільш вразливі у санітарному відношенні завдяки тому, що мають у своєму складі велику кількість цукру, яєць, вологи. Слід взяти до уваги, що при виробництві розроблених нами нових десертних виробів використовується фруктоза, кон'ячний маннан та ксантан, присутність яких може викликати зміну мікробіологічної якості готових виробів.

Тому, метою нашої роботи було вивчення мікробіологічних показників якості десертних виробів комплексно збагачених фруктозою, ксампаном, кон'ячним маннаном. Вивчення мікробного складу проводили у відповідності з методиками, затвердженими міністерство охорони здоров'я України і державними стандартами.

В ході досліджень встановлено, що незалежно від інгредієнтів всі дослідні зразки, порівняно з контролем, можуть зберігатися за стандартних умов протягом визначеного ГОСТ терміну. В цей період мікробіологічні показники якості усіх досліджених зразків цілком відповідають санітарно-гігієнічним вимогам. Крім того, введення у рецептури десертних виробів згаданих вище інгредієнтів не тільки не погіршує мікробіологічні показники їх якості, а й дещо покращує їх. Зокрема, граничний термін зберігання для яблучного зефіру з фруктозою та кон'ячним маннаном складає 24 години за температури +3°C. Натомість вже після 12 годин зберігання у контрольному зразку класичного яблучного зефіру дещо збільшується кількість мезофільних аеробних та факультативно анаеробних мікроорганізмів, а також желатин розріджуючих бактерій. Аналогічна закономірність спостерігається і при порівнянні класичних і модифікованих зразків лимонного желе та мусу. Для лимонного желе та мусу, виготовленого за класичною рецептурою, граничний термін зберігання складає 96

годин при температурі +3°C. Зразки, до складу яких входить фруктоза, коньячний маннан та ксампан, мають збільшений на добу термін придатності.

Симчич Т. В., Федосова Н. І., Потебня Г. П.

ВПЛИВ ПОВЕРХНЕВИХ АНТИГЕНІВ КЛІТИН ЕМБРІОНІВ КУРКИ НА ПОКАЗНИКИ ІМУНІТЕТУ МИШЕЙ З САРКОМОЮ 37

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАНУ

вул. Васильківська, 45, м. Київ, Україна

E-mail: Mama_choly@list.ru

Протипухлинні вакцини розглядають як один із засобів покращення якості життя та збільшення ефективності лікування онкологічних хворих. Ксеногенні протипухлинні вакцини досліджують порівняно недавно, проте, вважають, що з їх використанням вдасться подолати ряд недоліків, які притаманні вакцинам, які застосовуються у клінічній практиці на даний час, основний з яких – це толерантність імунної системи до «власних» пухлинних антигенів. Малігнізовані та ембріональні клітини подібні між собою за рядом ознак, зокрема – це експресія онкофетальних антигенів, збільшення продукції ангіогенних факторів та факторів росту. Ймовірно, введення ксеногенних аналогів цих білків може подолати імунологічну толерантність до антигенів пухлинних клітин.

Метою роботи було дослідити імуномодуючі властивості поверхневих антигенів ембріонів курки при пухлинному рості на моделі саркоми 37.

Досліди проводили на мишах-самцях лінії Balb/c, яким внутрішньом'язево була перещеплена саркома 37. Вакцинацію починали через 48 год після перещеплення пухлинних клітин. Препарат поверхневих антигенів ембріонів курки вводили триразово, підшкірно в ділянку спини по 0,3 мл/мишу (С=0,3 мг/мл). Імунологічне обстеження тварин проводили на 7, 14, 21 та 28 доби після перещеплення пухлини. Вивчали цитохімічну активність черевних макрофагів Мф в НСТ-тесті, цитотоксичну активність натуральних кілерів (НК), цитотоксичних Т-лімфоцитів (ЦТЛ) та Мф у МТТ-тесті.

Цитохімічна активність (ЦТХА) Мф контрольних мишей-пухлиноносіїв практично не відрізнялась від такої у інтактних тварин, за винятком 14 доби, коли реєстрували тенденцію до її зниження ($p > 0,08$). Натомість у вакцинованих тварин динаміка ЦТХА Мф була іншою. Порівняно з інтактним контролем на 21 добу пухлинного росту спостерігали тенденцію до її зростання ($p < 0,1$), з подальшим різким зниженням на 28 добу ($p < 0,05$). Різниця між показниками у тварин з пухлиною вакцинованої та контрольної груп була достовірною лише на 28 добу пухлинного росту, коли цей показник у вакцинованих тварин був знижений.

Цитотоксична активність (ЦТА) НК, ЦТЛ та Мф вакцинованих та контрольних пухлиноносіїв не відрізнялися від рівня контролю в жоден з термінів спостереження. Проте, спостерігали різницю між показниками тварин залежно від вакцинації. Так, у вакцинованих тварин, порівняно з контрольними пухлиноносіями, на 14 добу пухлинного росту суттєво зниженою була ЦТА НК ($p < 0,05$). Хоча надалі цей показник не відрізнявся у вакцинованих та контрольних тварин з пухлиною. ЦТА ЦТЛ та Мф вакцинованих мишей, практично не відрізнялась від такої у контрольних пухлиноносіїв, за виключенням 14 доби, коли спостерігали їх суттєве зниження (в обох випадках $p < 0,05$). Додавання аутологічної сироватки до середовища інкубації мало різноспрямований вплив у контрольних та вакцинованих тварин. Так, у контрольних мишей з пухлиною аутологічна сироватка достовірно знижувала ЦТА ЦТЛ (7 і 14 доби) та Мф (14 доба – достовірно, 7 і 21 доба – на рівні тенденції). У вакцинованих тварин інгібуючий вплив сироватки спостерігали лише щодо ЦТА ЦТЛ на 14 добу обстеження. Водночас, на 28 добу додавання сироватки збільшувало ЦТА Мф.

Таким чином, застосування поверхневих антигенів клітин ембріонів курки у мишей з модельним пухлинним процесом – саркомою 37 – запобігало розвитку пухлиноасоційованих

порушень у імунній системі вакцинованих тварин, таких як гіперактивація імунокомпетентних клітин та накопичення блокуючих факторів у сироватці крові.

Таранухо Ю.М., Таранухо М.П.

БАЦИЛОПОДІБНІ ВІРУСИ, ВИЯВЛЕНІ В РОСЛИНАХ СМОРОДИНИ ЧОРНОЇ ТА МАЛИНИ

Національний університет біоресурсів та природокористування України

E-mail: Yulenska_tr2510@ukr.net

Одним із основних методів ідентифікації рабдовірусів є електронно-мікроскопічний аналіз, який дає змогу вивчити морфологію, характер локалізації вірусних часток, аномалії в ультраструктурі клітин уражених рослин вірусами.

При дослідженні ультратонких зрізів тканин листків та аномальних пелюсток квіток смородини чорної з симптомами махровості (реверсії) були виявлені бацилоподібні частки. Завдяки великому розміру і зовнішньому вигляду, їх легко ідентифікувати серед клітинних органел. Віріони в основному розміщені у флоемних тканинах, тому досліджували їх повздовжні та поперечні зрізи. В останніх відмічалася багат шарова структура, включаючи чергування електронно-щільних і електронно-прозорих шарів у вигляді концентричних кілець. У центрі вірусних часток знаходиться електронно-прозора зона – канал з ущільненням у центрі. Далі, по периферії, проходить електронно-щільна зона – нуклеокапсид діаметром 55-60 нм. Зовнішній електронно-щільний шар – суперкапсидна мембрана товщиною до 8 нм. Типовими місцями локалізації вірусних часток є цитоплазма, ядро та перинуклеарна зона. У нуклеоплазмі виявлено тубулярні структури, діаметр яких 55-60 нм відповідає нуклеокапсиду дозрілих часток. Ці структури досить часто локалізуються по периферії ядра. Можливо, на внутрішніх мембранах відбувається збірка вірусних часток шляхом окутування вказаних структур мембраною. Віріони розміщуються як поодинокі, так і пластоподібними скупченнями, оточені одинарною мембраною, за щільністю подібною до ядерної. Їх розмір на ультратонких зрізах становив 240-290 x 65-90 нм, а в нативних препаратах – 275-340 x 55-62 нм. У цитоплазмі уражених клітин зустрічаються віріони довжиною до 525 нм. Вірусна інфекція спричинила такі ультраструктурні зміни у клітині: зменшення вмісту рибосом, ендоплазматичного ретикулуму у цитоплазмі, спостерігається вакуолізація пластид, які містять велику кількість пластоглобул, крохмальних зерен. Під час руйнування хлоропластів утворюються мієлінові тіла із гран ламел, але всередині органел вірусні частки не виявлені. Перехід гран ламел у мієлінові структури можна вважати побічним ефектом вірусної інфекції. Мітохондрії набухають, зменшується кількість крист або вони руйнуються.

У процесі вивчення ультратонких зрізів листків малини були виявлені бацилоподібні частки складної будови. Типовим місцем їх локалізації є цитоплазма. Віріони локалізувалися в основному у клітинах губчастої паренхіми, біля або всередині судинних пучків, але їх не виявляли в епідермісі, палісадних клітинах, ядрі чи перинуклеарній зоні. Як і у смородині чорній, у цитоплазмі вірусні частки зустрічалися поодинокі або утворювали невеликі скупчення, оточені клітинними мембранами. Розмір їх на ультратонких зрізах становив 410-480 x 75-85, а в нативних препаратах – 390-420 x 70-80 нм. За морфологічними ознаками та розміром часток, а також характером локалізації їх у клітині виявлений збудник ідентифікували як вірус хлорозу жилок малини – *Raspberry vein chlorosis virus*. У клітинах листків уражених тканин спостерігалися такі аномальні зміни: мембрани та кристи мітохондрій часто руйнуються, велика кількість хлоропластів набухає, їх грани та ламели теж руйнуються або розпадаються на окремі частини, в яких утворюються мієлінові структури. Останні містять багато пластоглобул. У деяких клітинах присутні аморфні ниткоподібні структури.

Таким чином, на рослинах смородини чорної з симптомами махровості було виявлено бацилоподібний вірус, локалізований у ядрі, перинуклеарній зоні та цитоплазмі. Розмір його часток становив 240-290 x 65-90 нм. Бацилоподібний вірус із розмірами часток 410-480 x 75-

85 нм виявлений у тканинах рослин малини з симптомами хлоротичної плямистості вздовж жилок, був локалізований тільки у цитоплазмі.

Третяк З., Демченко Н.

**МЕТАБОЛІЧНА АКТИВНІСТЬ КОРОЗІЙНО АКТИВНИХ УГРУПОВАНЬ
БАКТЕРІЙ ЗА РІЗНИХ ФОРМ РОСТУ**

Чернігівський державний педагогічний університет імені Т.Г.Шевченка

вул. Гетьмана Полуботка, 53, м. Чернігів, 14013, Україна

E-mail: demch@micro.net.ua

В процесі корозійного руйнування на поверхні металу формується біоплівка – особлива форма організації бактерій, яка впливає на інтенсивність корозійного процесу. Актуальним є порівняльне дослідження метаболічної активності корозійно небезпечних мікроорганізмів біоплівкової і планктонної форм росту [Козлова, 2005], серед яких провідне значення в процесі біокорозії належить сульфатвідновлювальним бактеріям.

Мета роботи – дослідити метаболічну активність, зокрема сульфатвідновлювальну, корозійних мікробних угруповань планктонної та біоплівкової форми росту за умов біокорозії сталі.

Для дослідження були використані угруповання вільних (планктон) бактерій та бактерій біоплівки, які попередньо культивувались на суміші рідких поживних середовищ Постгейта „В”, Каліненка і Гільтая, у співвідношенні 5,0:1,5:1,5 (для забезпечення умов розвитку бактерій усіх фізіологічних груп). Початковий титр бактерій угруповання планктонної форми росту складав: сульфатвідновлювальні (СВБ) – 10^5 кл/мл, залізовідновлювальні (ЗВБ) – 10^4 кл/мл, денітрифікувальні (ДНБ) – 10^4 кл/мл, біоплівкової форми росту: СВБ – 10^5 кл/мл, ЗВБ – 10^6 кл/мл, ДНБ – 10^4 кл/мл. Дослідження проводили в герметичних скляних ємностях об’ємом 100 мл, в які занурювали зразки сталі СтЗпс (площа поверхні 24 см²), підготовлені за загальноприйнятою методикою [Сухотин, 1980]. Час культивування 10 діб за температури 28±2°C. Клітини бактерій біоплівки знімали у фіксований об’єм (40 мл) 0,1N фосфатного буфера (рН=7) за допомогою ультразвуку з частотою 25 кГц (30 с) двічі з інтервалом 60 с на приладі УЗМ-003/н і використовували для приготування розведень. Кількість бактерій визначали методом граничних десятикратних розведень на відповідних рідких поживних середовищах: СВБ – Постгейта „В”, ЗВБ – Каліненка, ДНБ – Гільтая. Сульфатвідновлювальну активність бактерій оцінювали за накопиченням в середовищі сірководню, який визначали методом йодометричного титрування [Васильев, 1989]. Повторність дослідів трикратна.

Метаболічна активність угруповання бактерій біоплівкової форми росту була більшою в порівнянні з угрупованням планктонної форми росту за умов мікробної корозії. Накопичення сірководню в середовищі, інокульованому біоплівковою формою в 1,26 рази вище (188,19 мкг/л) порівняно з середовищем, інокульованим планктонною формою за однакової чисельності планктонних клітин СВБ в культуральній рідині (10^6 кл/мл). В біоплівці, сформованій на поверхні металевої пластинки при інокуляції бактеріями біоплівкової форми росту, кількість мікроорганізмів становила: СВБ – 10^6 кл/мл, ЗВБ – 10^5 кл/мл, ДНБ – 10^4 кл/мл. Щодо кількості бактерій, вилучених з біоплівки, сформованої на поверхні металевої пластинки при інокуляції бактеріями планктонної форми росту, чисельність клітин становила: СВБ – 10^5 кл/мл, ЗВБ – 10^4 кл/мл, ДНБ – 10^3 кл/мл. Отже, бактерії біоплівкової форми росту порівняно з планктонними бактеріями формують на поверхні металевої пластинки більшу за чисельністю клітин біоплівку.

Отже, метаболічна активність корозійно активних угруповань бактерій біоплівкової форми вище планктонної форми, що може бути пояснено зміною форми співіснування бактерій. Для угруповання бактерій біоплівкової форми росту за умов біокорозії сталі можна передбачити більшу корозійну агресивність.

Турко І., Сосновська О., Білінська І.

ВИДІЛЕННЯ СІРКООКИСНЮЮЧИХ БАКТЕРІЙ З РІЗНИХ ЕКОЛОГІЧНИХ НІШ

Львівський національний університет імені Івана Франка

вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна

Сірководородні бактерії мають важливу роль у кругообігу сірки в природі. Вони окиснюють сірку та її відновлені сполуки до сульфатів, що є субстратом, з якого сульфатвідновлювальні бактерії утворюють сірководень. Хемолітотрофні сірководородні (тіонові) бактерії здатні отримувати енергію в результаті окиснення іонів S^{2-} , S^0 , $S_2O_3^{2-}$ чи SO_3^{2-} .

Метою роботи було виділити чисті культури тіонових бактерій з різних екологічних ніш і дослідити їхні морфологічні особливості.

Для виділення тіонових бактерій взято такі біотопи, як ґрунт і вода з невеликого потічка (м. Великий Любін) та ґрунт териконів шахт (м.Червоноград). При виборі об'єкта досліджень керувалися тим, що м. Великий Любін знаходиться у сіркорудному районі, а у ґрунті териконів міститься багато сірки.

Для одержання нагромаджувальних культур тіонових бактерій було підібрано два середовища: Бейерінка та Баалсруда, оскільки відомо, що різні види тіонових бактерій вибагливі до складу поживних речовин у середовищі. Проведені дослідження виявили, що середовище Бейерінка є більш придатне для виділення сірководородних бактерій, оскільки при його використанні виділено значно більшу кількість мікроорганізмів з одного й того ж субстрату, порівняно з середовищем Баалсруда.

Кількість мікроорганізмів в 1 г абсолютно сухого ґрунту з м. Великий Любін становила $(3,7 \pm 0,8) \times 10^7$, у ґрунті з м. Червоноград – $(5,2 \pm 1,27) \times 10^5$, титр сірководородних бактерій у воді з м. Великий Любін – $(3,2 \pm 0,5) \times 10^9$. Таким чином, якщо порівняти воду і ґрунт як природне середовище для сірководородних бактерій з м. Великий Любін, то бачимо, що у воді кількість мікроорганізмів є більшою у 100 разів. Отже, вода є кращою екологічною нішею для тіонових бактерій, більшості яких є облигатними аеробами. Водночас у ґрунті, відібраному у м. Великий Любін, кількість мікроорганізмів була на два порядки більшою, ніж у ґрунті териконів шахти. Це можна пояснити тим фактом, що він був насипний і неструктуризований і у ньому дуже мала вологість (2,0%), по-друге, м. Великий Любін знаходиться у сіркорудному районі.

Колонії виділених бактерій за формою більшість були круглими, невеликих розмірів (2–5 мм), з гладкими і хвилястими краями, опуклого профілю, проте відрізнялися за пігментацією (прозорі, білі, жовті, блідо-рожеві, голубі, коричневі), деякі з них сильно вросли в агар. За відмінністю особливостей росту культур на щільному середовищі зробили висновок про різноманітність видів. Всі бактерії належали до грамнегативних, безкапсульних, за формою клітин переважали поодинокі короткі тонкі палички, зрідка еліпсоподібні, що є типовим для бактерій роду *Thiobacillus*.

Удовиченко К., Тряпичина Н., Удовиченко В., Поліщук В.

ВІРУСНІ ХВОРОБИ ГРУШІ ТА ЇХ ДІАГНОСТИКА

Інститут садівництва УААН

вул. Садова, 23, м. Київ, 03027, Україна

E-mail: k_udovychenko@rambler.ru

В Україні до останнього часу саджанці груші вирощували на насіннєвій підщепі, що значною мірою знімало проблеми негативного впливу вірусної інфекції на продуктивність дерев та якість продукції садівництва. В останні роки все більше інтенсивних промислових насаджень груші закладають садивним матеріалом на вегетативних підщепах. Однією з основних вимог для створення таких садів є висока якість саджанців, вирощених на безвірусній основі з використанням безвірусного прищепного та підщепного матеріалу. Для створення банку

безвірусних клонів сортів і підщеп груші нами було проведено обстеження маточних та колекційних насаджень у спеціалізованих господарствах, а саме в ДГ «Новосілки», на Подільській ДСС і Кримській ДСС Інституту садівництва УААН.

У дослідних господарствах було проведено візуальний огляд насаджень та відібрано зразки без зовнішніх ознак бактеріальних, грибних чи вірусних інфекцій. Діагностику відібраних зразків проводили методом ІФА на наявність вірусів хлоротичної плямистості листя яблуні (ВХПЛЯ), борознистості деревини яблуні (ВБДЯ), ямкуватості деревини яблуні (ВБДЯ) та вірусу мозаїки яблуні (ВМЯ). Загалом протестовано 244 сортозразки найбільш перспективних для промислового садівництва України 47 сортів груші та 271 зразок 20 традиційних типів і нових селекційних форм вегетативних підщеп.

Результати тестування підтвердили актуальність питання поширення вірусних інфекцій у насаджень груші в Україні та засвідчили високий рівень інфікування їх усіма тестованими вірусами – 18,1%.

Вірусні захворювання виявилися доволі розповсюдженими незалежно від типу насаджень і регіону, де проводився відбір зразків. Діагностика сортового матеріалу показала, що найбільш розповсюдженим у плодоносних насадженнях груші є вірус ямкуватості деревини яблуні – 26,0%, тоді як рівень інфікування підщеп груші цим вірусом виявився значно нижчим і становив 3,5%. Доволі часто вірус ЯДЯ траплявся у комплексі з іншими вірусами в різних комбінуваннях: ЯДЯ+ХПЛЯ, ЯДЯ+ХПЛЯ+ВМЯ та інші. Рівень інфікування сортових насаджень іншими вірусами становив: ХПЛЯ – 8,9%, БДЯ – 2,7%, ВМЯ – 5,8%.

За результатами тестування було відібрано чисті зразки 44 сортів груші, з яких усі зразки 21 сорту не були інфіковані жодним вірусом. Не вдалося виділити жодного зразка, вільного від вірусної інфекції, у сортів Золота осінь, Жак Тельє та Діколон, які виявилися 100%-во інфікованими.

Використання клонових підщеп, що розмножуються вегетативно, за відсутності фітосанітарного контролю може стати постійним джерелом вірусної інфекції. Тому значну увагу слід приділяти і тестуванню підщеп груші. Проведена діагностика показала загальний нижчий рівень інфікування підщеп груші – 10%, порівняно зі сортовим матеріалом – 29,5%. Різниця спостерігалася і в рівнях інфікування окремими вірусами. Якщо у сортів переважаючим вірусом був ВЯДЯ, то підщепи частіше були інфіковані вірусом хлоротичної плямистості листя яблуні – 6,3%. Ураженість підщепного матеріалу вірусами БДЯ та ВМЯ становила – 1,1% і 1,5% відповідно. Так само, як і у сортах, спостерігали наявність комплексної вірусної інфекції. Загальний нижчий рівень інфікування вегетативних підщеп можна пояснити порівняно нетривалим строком використання їх у промисловому садівництві України та тим, що сучасні маточники їх закладаються переважно перевіреним сертифікованим імпортованим садивним матеріалом.

Для всіх 20 перевірених типів вегетативних підщеп груші було виділено зразки, вільні від вірусної інфекції.

Узун Я., Гусь О., Ліманська Н.

**РОСТОВІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДЕЯКИХ ШТАМІВ ЗБУДНИКІВ
БАКТЕРІАЛЬНОГО РАКУ ВІНОГРАДУ**

Кафедра мікробіології і вірусології

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова

вул. Дворянська, 2, м. Одеса, 65082, Україна

E-mail: limmy@mail.ru

Фітопатоген *Rhizobium vitis* (за минулою номенклатурою – *Agrobacterium vitis*) є надзвичайно шкідливим для молодих виноградарників. Пухлини, що розвиваються внаслідок захворювання, перешкоджають нормальному току речовин і здатні спричинити передчасну загибель рослини. У зв'язку з високою шкідливістю бактеріального раку важливим є вивчення

біологічних властивостей патогенних штамів *R. vitis*. Знання ростових характеристик є необхідним для проведення низки досліджень, а також для накопичення бактеріальної біомаси.

Для отримання біомаси штами збудників бактеріального раку звичайно культивують при 25°C протягом двох діб. Враховуючи тривалий, порівняно з іншими бактеріями, ріст *R. vitis*, метою нашої роботи було вивчення ростових характеристик деяких штамів даного фітопатогена, виділених з виноградників півдня України.

Використовували середовище УЕВ, рекомендоване для вирощування збудників бактеріального раку: манітол – 10 г, дріжджовий екстракт – 0,4 г, K_2HPO_4 – 0,5 г, $MgSO_4$ – 0,2 г. Для опису ростових характеристик штамів за стандартним методом будували криву росту культур та обчислювали такі показники, як кількість клітинних поділів та час генерації. Усього було досліджено 15 штамів *R. vitis*.

При вивченні ростових характеристик було виявлено, що залежно від штаму час генерації відрізнявся. У більшості випадків час генерації становив 1,4-2,2 год.

Фаза логарифмічного росту культур тривала до 10-28 год. (для штаму №14 тривалість логарифмічної фази становила 32 год.). У 11 штамів із 15 спостерігалось явище діауксії, тобто протягом росту культур чітко відмічалися дві логарифмічні фази. Для штаму №7 було показано наявність трьох фаз логарифмічного росту. У 6 штамів було відмічено наявність фази відмирання після першої фази логарифмічного росту, а для штаму №7 – наявність двох фаз відмирання після другої і третьої логарифмічної фази. Для двох штамів показано наявність стаціонарної фази після другої фази логарифмічного росту. Діауксію можна пояснити наявністю у середовищі манітолу. Ймовірно, бактерії спочатку утилізують маніт до манози. Після цього маноза слугує субстратом для другої фази логарифмічного росту.

Показано, що за 72 години інкубації у рідкій культурі на середовищі УЕВ накопичуються від $3,8 \times 10^6$ до $4,0 \times 10^8$ КУО/мл залежно від штаму.

Венгер А., Шуай Є., Узун Я., Коротаєва Н.

АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ RHIZOBIUM VITIS ЗА РІЗНИХ ТЕМПЕРАТУР

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова

кафедра мікробіології і вірусології

вул. Дворянська, 2, м. Одеса, 65082, Україна

E-mail: venger87@ukr.net

Для захисту винограду від бактеріального раку застосовують метод термотерапії, який полягає в тому, що садивний матеріал або лозу для щеплення занурюють у воду, підігріту до температур 50-54°C. Метод не забезпечує стовідсоткового знищення бактерій. Проблемою у термотерапії виявляється те, що штами *R. vitis* відрізняються чутливістю до температур.

Метою роботи було дослідження виживання клітин штамів збудників бактеріального раку винограду за різних температур, а також вплив режимів термотерапії на адгезивні властивості бактерій. Готували розведення культури бактеріальних клітин у таких концентраціях: 10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 КУО/мл. Застосовували температурні режими 50°C, 52°C та 54°C за тривалості обробки 30 хвилин. Прогріті суспензії концентрацією 10^8 кл/мл перевіряли на здатність до адгезії на тканинах винограду та порівнювали з непрогрітими контролями. Усього було досліджено 7 штамів збудників бактеріального раку, виділених на виноградниках півдня України.

У результаті дослідження було показано, що прогрівання суспензій клітин у концентраціях 10^8 - 10^5 КУО/мл призводило до зменшення кількості життєздатних клітин на один порядок, а у випадку одного зі штамів – на два порядки. Якщо ж концентрація клітин становила 10^4 - 10^3 КУО/мл, то істотної різниці у чисельності життєздатних клітин до й після прогрівання виявлено не було. Вивчення здатності штамів до прикріплення на тканинах винограду показало такі результати:

Рівень адгезивності штамів збудника бактеріального раку на тканинах винограду

Штам	Контрольні значення адгезивності	Значення адгезивності після прогрівання		
		50°C	52°C	54°C
<i>R. vitis</i> 14K1	3,0±0,2	2,8±0,8	2,5±1,0	3,1±0,3
<i>R. vitis</i> 18M	30,0±5,2	25,0±7,2	28,0±9,0	22,0±8,0
<i>R. vitis</i> 6MT	48,2±4,8	51,0±5,0	42,6±5,5	41,6±7,0
<i>R. vitis</i> C24	156,0±31,0	162,0±42,4	150,2±25,0	161,0±38,5
<i>R. vitis</i> 19M	80,6±12,5	75,4±10,1	76,8±12,6	78,2±10,2
<i>R. vitis</i> CMШ	655,0±52,0	663,2±32,8	642,2±45,8	635,2±62,4
<i>R. vitis</i> 6MШ	55,0±2,6	58,2±3,4	52,0±5,3	49,8±7,7

Значення адгезивності прогрітих клітин істотно не відрізнялися від контрольних значень. Отримані результати показують, що проведення термотерапії рослин ускладнюється тим, що підвищення температур не впливає на прикріплення бактерій.

Вербенюк О., Новицька О.

ВИЗНАЧЕННЯ АНТИВІРУСНОЇ АКТИВНОСТІ ІНТЕРФЕРОНІВ

Національний університет біоресурсів і природокористування України

бул. Потехіна 16, н.к. №12, м. Київ, 03041, Україна

E-mail: emilrenio@bigmir.net

Інтерферони (inf α, β, γ) – це цитокіни, що синтезуються активними клітинами імунної системи та володіють широким спектром біологічної дії.

Препарати інтерферонів застосовуються під час комплексного лікування вірусних інфекцій, аутоімунних розладів, імунотерапії пухлин, активації макрофагів.

Визначення антивірусної активності інтерферонів є одним з етапів контролю під час отримання готового комерційного препарату.

Згідно з рекомендаціями ВООЗ, антивірусну активність інтерферонів перевіряють на системі клітинна культура MDBK (Madin-Darby bovine Kidney cells) та тест-вірусу везикулярного стоматиту (ВВС).

Метою нашої роботи було з'ясувати можливість використання іншої системи клітинна культура-вірус для визначення антивірусної активності готових препаратів інтерферонів. У роботі використали готові комерційні препарати інтерферонів: інтерферон лейкоцитарний з лейкоцитів крові людини, активністю 1000МО та препарат з суміші рекомбінантних інтерферонів для ветеринарного застосування з активністю 1млн МО/мл.

Як індикативну систему використовували постійну перещеплювальну клітинну культуру нирки ембріона свині (СНЕВ) та вакцинний штам вірусу ензоотичного енцефаломієліту свиней.

Культуру культивували у пластикових мікро-планшетах для культивування клітин (фірми „Sarstedt”) у поживному середовищі ДЕМЕМ + 199 + 10% сироватки ВРХ при +37°C з додаванням 5% CO₂. Посівна доза клітин становила 300 тис. клітин/см³.

На добре сформований моношар клітин вносили десятикратні розведення препаратів інтерферонів, через 20 год інкубації з лунок культуральне середовище видаляли, клітини промивали розчином Хенкса та вносили робочу дозу вірусу 100Туд50.

Інкубація вірусу тривала 30 хв, після чого клітини відмивали розчином Хенкса та вносили підтримуюче середовище.

Обов'язково ставили контролі робочої дози, клітинної культури та титру вірусу.

Результати обліковували через 24 та 48 год після повної дегенерації моношару інфікованих контрольних клітин.

У результаті проведеної роботи було з'ясовано, що запропонована система дає змогу виявити антивірусну дію досліджуваних препаратів інтерферонів. Активність досліджуваних інтерферонів виявилася дещо меншою, ніж заявляли виробники, що ми пов'язуємо з різними системами контролю активності.

Верхотурова І.С.**ЗБЕРЕЖЕННЯ ЖИТТЄЗДАТНОСТІ *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* BV. *VICIAE*
В ГЕЛЕВИХ КОМПОЗИЦІЯХ НА ОСНОВІ ЛИПКОГЕНУ «ЕПАА»***Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України**вул. Заболотного 154, м. Київ, Д 03680 МСП, Україна**E-mail: IRINKACV@ukr.net*

У сучасному рослинництві надзвичайно актуальною є розробка комплексних мікробних препаратів, які відповідають вимогам екологічної безпеки і мають широкий спектр корисних властивостей. Для вирішення цієї проблеми необхідною умовою є висока якість препаратів та підвищення терміну їх зберігання. Введення до складу таких препаратів гелевих компонентів та біологічно активних речовин може сприяти збереженню в них високого титру життєздатних мікроорганізмів протягом тривалого часу.

Раніше нами було показано, що застосування гелевих композицій разом з регуляторами росту рослин (РРР) позитивно впливає на якість препарату повільнорослих ризобій сої.

Метою роботи було дослідити вплив гелевих композицій на основі липкогену «ЕПАА» і регуляторів росту рослин на життєздатність швидкорослих ризобій гороху. Об'єктом досліджень був виробничий штам бульбочкових бактерій гороху *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* УКМ В-6066 з колекції відділу загальної та ґрунтової мікробіології Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ. В роботі використовували препаративні композиції на основі гелевих наповнювачів: ЕПС – природний екзополісахарид ксантан, що синтезується *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, «ЕПАА» – сополімер акриламиду та ЕПС, а також регуляторів росту рослин івіну або біосилу виробництва Міжвідомчого науково-технологічного центру НАН та МОН України «Агробіотех».

Встановлено, що на середовищі Ісварана, на якому вирощували (контроль) *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* УКМ В-6066, титр життєздатних клітин зберігався на початковому рівні протягом 100 діб. На 130 добу зберігання найбільшу кількість життєздатних мікроорганізмів спостерігали у варіанті з липкогеном та РРР біосилом, де цей показник перевищував такий варіанту без РРР в 1,7 рази, а контроль в – 4,7 рази. Проте у варіанті з липкогеном та івіном титр життєздатних бульбочкових бактерій був менший, ніж у контролі. За 130 діб зберігання кількість життєздатних ризобій гороху у контрольному варіанті зменшувалась порівняно з початковою в 24,5 рази, у варіанті з липкогеном без РРР – в 15,1 рази, а у варіанті з липкогеном та біосилом – в 5,6 рази.

Таким чином, додавання в культуру швидкорослих бульбочкових бактерій при її зберіганні гелеутворюючих компонентів «ЕПАА» та ксантану, а також біосилу підвищує життєздатність цих бактерій і сприяє подовженню терміну зберігання препарату.

Юмина Ю.¹, Бубнова А.²**МІКРОБНА ДЕГРАДАЦІЯ ЗАХИСНОГО ПОКРИТТЯ «ПОЛІКЕН 980-25»***¹Інститут мікробіології і вірусології НАН України**вул. Заболотного, 154, Київ Д 03680 МСП**²Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України**Харківське шосе, 4, Київ-1068, Україна**E-mail: YumynaJulia@ukr.net.*

За умов використання небіостійких покриттів металевих підземних споруд ці покриття додають у ґрунт джерело вуглецю та енергії у вигляді поліетилену полівінілхлориду та різних модифікацій нафтобітумних сполук. Таким чином, пасивний захист сприяє формуванню геохімічно активного угруповання мікроорганізмів у вигляді біоплівки, яке стає агресивним і руйнує цю споруду.

Для підвищення ефективності захисних покриттів необхідно вивчати особливості формування і функціонування біоплівки на їх поверхні.

Таким чином, метою нашої роботи було дослідити біодеградацію захисного покриття “Полікен 980-25” формування біоплівок моно- і бінарними культурами *Pseudomonas pseudoalcaligenes* шт. 109, *Arthrobacter* sp. шт. 102 та їхньої асоціації

Результатом взаємодії біоплівки досліджуваних бактерій є його деградація. Цей процес був досліджений у динаміці (1, 30, 90, 180 діб). Методом ІЧ-спектроскопії на приладі TEN-SOR 37 фірми «Bruker» були зняті спектри. При порівнянні контрольних і дослідних зразків згідно спектрального аналізу під дією бактеріальних культур, а саме *Arthrobacter flavescens*, шт. 102, *Pseudomonas pseudoalcaligenes* шт. 109 та їх асоціації, в бутылкаучковому шарі відбуваються хімічні зміни. Під дією *Arthrobacter flavescens*, шт. 102 відбувається утворення ефірних і просто ефірних груп та розрив СН зв'язків у різних СН групах лінійного ланцюга. Також відбувається розрив подвійного зв'язку у СН групах. Вплив *Pseudomonas pseudoalcaligenes* шт. 109 на клеючу основу покриття дещо відрізняється від впливу *Arthrobacter flavescens*, шт. 102. Відмінність полягає у розриві С=О зв'язку. Також як і у зразках на які впливав *Arthrobacter flavescens*, шт. 102, відбувається розрив подвійного зв'язку у СН групах, розрив СН зв'язків у різних СН групах лінійного ланцюга й утворення С-О зв'язку. Найістотніші зміни покриття відбуваються під впливом бактеріальної асоціації: повністю зникає два піки. Перший характерний для бутылкаучку, тобто відбувся розрив подвійного зв'язку СН груп. Другий – СН зв'язок, зникнення його свідчить про розрив зв'язку у СН групах; розрив С-О зв'язку. На відміну від спектрів зразків, що перебували під впливом монокультур, у спектрі з'явився новий пік. Поява цього піку свідчить про утворення С=О зв'язків у хімічному складі покриття. Всі вищеперелічені зміни призводять до зниження міцності захисного покриття.

Фізико-механічні зміни матеріалу, що відбулися внаслідок взаємодії біоплівок і покриття досліджувались у динаміці протягом 180 діб. Міцність до розриву (y_r) підраховувалась за формулою: розтягуюче навантаження (F_r), при якому зруйнувався зразок, віднесене до площі першопочаткового поперечного зрізу (A_0) зразка. Виражається у МПа.

За отриманими результатами можна говорити про зниження міцності покриття «Полікен» під впливом *Pseudomonas pseudoalcaligenes* на 5,6 %, *Arthrobacter* sp. на 9%, та їхньої асоціації на 20%.

Отже, під впливом бактерій у *Arthrobacter* sp., *Pseudomonas pseudoalcaligenes* відбувається розрив подвійних зв'язків СН групах і утворення нових радикалів, розірвання зв'язків між СН групами та руйнування складноефірних груп. Це значно знижує фізико-механічні властивості покриття: міцність до розриву покриття “Полікен 980-25” знижується під впливом: *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, шт.109 на 5,6%, *Arthrobacter* sp., шт. 102 на 9%, асоціації *Pseudomonas pseudoalcaligenes* шт., 109 та *Arthrobacter* sp., шт. 102 на 20%.

Borisenko A.¹, Aisenberg V.², Antonyuk M.¹, Stoiko V.², Kapichon A.²

PRODUCTION OF EXTRA-CELLULAR LIPASE OF NEW FUNGI
STRAIN RHIZOPUS SP. 2000 FM

¹National University of Food Technologies
Vladymyrska St., 68, Kiev, 01033, Ukraine
E-mail: antonyuk@usuft.kiev.ua

²D.K.Zabolotny Institute of Microbiology and Virology
Acad-Zabolotny St., 154, Kiev, 03680, Ukraine

Selection of the fungi cultures creation and modification to use them as the sources of the ferments with the new properties is one of the most significant direction of biotechnology progress now. Among the variety of the known ferments only few have the same perspectives as the lipases do. Being the natural, fats' splitters, the lipolitic ferments are very interesting for those branches of

industry, where the total or partial hydrolysis of fats and oils is needed and for the medical and industrial branches of application.

The scope of the work was the research of physiological and biochemical properties of the new active producent of out-cell lipase - *Rhizopus* sp. 2000 FM, especially the influence of the carbon nutrition sources on the activity of the fungi produced ferment.

For *Rhizopus* sp. 2000 FM cultivation the nutritive substrates with Chapek ambient were used with the addition of different carbon sources in different concentrations. The influence of the carbon nutrition components on LA and fungus *Rhizopus* sp. 2000 FM growth was studied experimentally through the change of carbon sources in equivalent relation. The LA evaluation was performed with the use of the spectrophotometric method and n-nitrophenyl-palmitate as a chromogenic substrate. The following plants oils were used as the carbon sources: sunflower, olive, lemon, castor, raps, walnut, maize; carbohydrates (glucose, arabinose, maltose, xylose, sucrose, lactose, starch); polyatomic alcohols (inosit, sorbit, doulcit) and surface-active compound (SAC) - twin-20. The highest levels of lipolytic activity (LA) were obtained at the fungus cultivation at the substrate with: sunflower oil (1%), sucrose (1%) and with starch (2%).

We have not established the direct correlation between the level of biomass accumulation and LA level. The data obtained on the studies of carbon nutrition on the growth and LA is the new perspective tendency that allows to optimize nutrition substrate of lipase in future.

Galkin O.

IMMUNIZATION SCHEMAS FOR OBTAINING OF MONOCLONAL ANTIBODIES AGAINST HUMAN IMMUNOGLOBULINS

National technical university of Ukraine «Kyiv polytechnic institute»

Peremogy av., 37, Kyiv, 03056, Ukraine

E-mail: alexfbt@mail.ru

A schema permitting to obtain monoclonal antibodies (MAbs) is now known as hybridomal technology (Kohler, 1975); it forming a bridge between cellular engineering and molecular immunology approaches.

The schema of MAb obtaining is rather old, there are a lot of modifications for each of its technological steps. The variability of methodological approaches reflects the differences of tasks to be solved. However, the general strategy of hybridomal technology is unchanged and includes the following steps: antigen purification and immunization of animals, obtaining of antibody-secreting B-lymphocytes, fusion of these cells with myeloma cells, hybridomas selection and their choice according to their levels of MAbs synthesis, cloning and re-cloning, obtaining of culture fluids or ascites with high MAb concentration, and large-scale MAb production (Hudson, 1976; Kincade, 1981; Bazin, 1990).

It should be noted the obtaining of MAbs to human IgG to possess some peculiar properties (Goding, 1996; Klimovich, 1998) caused by immunogen purification steps, immunization of animals, and testing of hybridomal clones obtained.

The purposes of this work were: to review the available literature data on immunization schemas used in hybridomal technology, and to analyze and sum up our own results on MAbs obtained to human IgG using different immunization schemas.

Two immunization schemas were compared permitting to obtain MAbs against human IgG. Because of high immunochemical properties of MAbs obtained, possibility to have them in short time intervals, and the absence of allergic reactions in mice immunized, the short schema was found to be more appropriate and adequate. A high correlation was detected between spectra of MAbs epitope specificity and immunization schemas. In regional immune response of Balb/c mice, a single sequence of human IgG polypeptide chain was immunodominant; it is proved by similar epitope specificities of MAbs obtained. The long schema induces the immune response to different antigen determinants.

Galkin O.

OBTAINING OF NEW MONOCLONAL ANTIBODIES SPECIFIC TO HUMAN IGA AND THEIR APPROACH IN IMMUNOASSAY

National technical university of Ukraine "Kiev polytechnic institute"

Peremogu av., 37, Kiev, 03056, Ukraine

E-mail: alexfbt@mail.ru

Different strategies of diagnostics and approaches for the construction of ELISA test-kits for determination of certain infection are exist now. However all this strategies mainly are based on the exposure of humoral immune response to the infection agent. Elaboration of these test-kits is not possible without the use of antispecies immunoenzyme conjugates. Conjugates of monoclonal antibodies (MAbs) to human IgA are included in ELISA kits for the diagnostics of chlamydiosis, urea- and mycoplasmosis, helicobacteriosis, hepatitis A infection and others.

The aim of this development was an obtaining of new MAbs to human IgA, suitable for the use as antispecies immunoenzyme conjugates in serological diagnostics.

An original set of 25 new hybridoma cell-line that produces MAbs to human IgA is obtained. The deep study of biological properties of antibodies has been conducted. Comparative evaluation of horseradish peroxidase (HRP) conjugates of MAbs is conducted and possibility of their usage in ELISA test-kits has been studied. Two of them has shown better diagnostic value then known analogue GA-112 (Sigma). The possibility of the usage of this MAbs conjugates in ELISA test-kits for the diagnostics of helicobacteriosis, urogenital chlamydiosis, ureaplasmosis, urogenital and respiratory mycoplasmosis is proved.

The possibility of the application of two schemes of immunization for obtaining of anti-IgA MAbs has been studied. Taking into account essential diagnostic value of MAbs, time of receiving of antibodies, absence of allergic reactions for mice the short-term scheme of immunization was more suitable and adequate. The close correlation between the diversity of epitop specificity of MAbs and scheme of immunization has been found out. At local immune response for Balb/c mice one district of the polypeptide chain of IgA molecule has been appeared immunodominant. This fact is confirmed by near epitop specificity of MAbs. At long-term scheme immune response was formed on various antigen determinants.

Klemantovich A., Myamin V., Pesnyakevich A.

ANALYSIS OF SPECIES DIVERSITY OF THE TOMATO PATHOGENS WERE CIRCULATING IN 2008 YEAR IN GREENHOUSE FARMS IN BELARUS

Belarussian State University

4, Nezavisimost Ave., Minsk, Belarus

E-mail: anna@bio.bsu.by

Indoor cultivated tomato is one of the most economically important crops for Republic of Belarus. Meanwhile this crop is highly susceptible to diseases of various nature. For instance, the abundance of tomato bacterial infections in greenhouses may reach over 80%. Currently, there is a significant lack of research concerning tomato bacterial infections and the diversity of pathogens. This limits assessment of current phytopathologic states within the communities of these crops. The main objective of this investigation was to estimate the phytosanitary conditions of tomato indoor communities in a range of greenhouse farms in 2008. This included the assessment of the presence of bacterial infections, species diversity of the pathogens, as well as the distribution and the virulence of the pathogens.

During 2008 year vegetating plants were observed in 9 greenhouse farms. Upon the detection of bacterial infection samples were taken for laboratory analysis. Microorganisms were purified from the infected samples using standard microbiology techniques. Purified cultures were tested for phytopathogenic properties by injection into the leaf tissue of broad beans (*Vicia faba*) and tobacco (*Nicotiana tabacum*). The species were identified by PCR-analysis with specific primers recommended in litera-

ture for the detection of phytopathogenic *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas corrugata* and *Pseudomonas mediterranea*. Nucleotide sequence of the 16S RNA from the purified clones was also determined and compared to known sequences in the BLAST database.

Overall, 24 infected samples were obtained from 9 farms. Among the microorganisms purified 23 phytopathogenic strains were selected. According to a range of physiological and biochemical tests, 10 of them belonged to a single species of gram positive microorganism. Using PCR these strains were identified as *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, a pathogen of tomato bacterial cancer. Outbreaks of this disease were registered at 7 out of 9 farms observed. The other species are currently being identified by sequencing of 16S RNA gene.

In conclusion, the up-to-date analysis of the pathogen diversity suggests that bacterial cancer was a prevalent tomato disease within a range of the observed greenhouse farms in Belarus in 2008.

Kudzina I., Lagonenko A.

GENETIC CHARACTERISTIC OF BELARUSIAN ISOLATES OF *ERWINIA AMYLOVORA*

Belarussian State University

Nezavisimosti str., 4, 220030, Minsk, Belarus

E-mail: kuddya@gmail.com

Erwinia amylovora is a pathogen of fire blight, a bacterial disease that affects fruit crops. It originates from South America, where it has been known since 1893. Nowadays this disease is spread around the world and causes the tens millions dollars worth of harm. In Republic of Belarus the cases of the disease were first registered in 2007, namely in Miazdelski and Uzdzenski districts of Minsk region.

We purified 11 strains of the pathogen that produced yellow mucous colonies on the medium containing copper sulphate. They also produced the appropriate PCR product in the reaction with the primers specific for *hrpN* gene from *Erwinia amylovora* (about 1200 bp). Isolates were then subjected to a further biochemical and molecular biology analysis.

One of the means of *Erwinia amylovora* characterisation used in this study was the repeat number determination in pEA29 plasmid. We carried out PCR reaction using primers A (5-*CGGTTTTTAACGCTGGG*-3) and B (5-*GGGCAAATACTCGGATT*-3) followed by restriction digest of the product with *Sau3AI* as well as PCR using primers RS1 (5-*ACCTCAGTGCGATTACAG*-3) and RS2c (5-*GTCCCATCTGTGTTAAG*-3). The products obtained were visualised by 8% polyacrilamide gel electrophoresis. *Erwinia amylovora* strains 1/79 and 659, whose pEA29 plasmids have stable repeat number of 6 and 5 correspondingly, served as a positive control.

As a result, we have found out that pEA29 plasmid from Belarussian *Erwinia amylovora* strains contains 58-nucleotide repeats as the products obtained are have the same size as products from *Erwinia amylovora* 659.

Lavryk S., Gnatush S.

INFLUENCE OF LIGHT INTENSITY ON SULFUR ACCUMULATION BY PURPLE SULFUR BACTERIA *THIOCAPSA* SP.

Ivan Franko National University of Lviv

Hrushevsky str., 4, Lviv, 79005, Ukraine

E-mail: sofi_4819@mail.ru

The purple sulfur bacteria of genus *Thiocapsa* belong to the family *Chromatiaceae*. Representatives of this family are distributed in the anaerobic, sulphide-rich zone of freshwater or marine environments. The purple sulfur bacteria mainly grow in 10-15 meter depth in the water or on the surface of underwater objects and sludge. Because the purple photosynthetic bacteria grow best in deeper zones of aquatic habitats, they cannot effectively use parts of the visible spectrum normally employed by photosynthetic organism. The pigment absorption of short and long wavelength far-red light enable them to grow not only in such depth but under dense surface layer of cyanobacteria and algae that absorb a large amount of blue and red light. Consequently, the light intensity greatly has

influence on growth and assimilation of carbon dioxide, organic and inorganic matters by photolitho-autotrophic and photoorganoheterotrophic species.

The purple sulfur bacteria *Thiocapsa* sp. performs anoxygenic photosynthesis and use reduced sulfur compounds as electron source. This microorganism oxidizes hydrogen sulfide to sulfur and deposits it internally as sulfur globules. The stored sulfur also may serve as electron donor and can be oxidizing to sulfate when external electron source is exhausted or absent.

In this study we investigated sulfur storage in the cells of *Thiocapsa* sp. under different light intensities.

The culture of *Thiocapsa* sp. was grown anaerobically in the mineral Van Niel medium with hydrogen sulfide as electron donor and sodium hydrocarbonate as carbon source. The cultivation was carried out under light intensity of 100, 200, 500 and 1000 lux during ten days. The biomass was estimated photoelectrocolorimetrically, the content of intracellular sulfur was determined by the method of Van Gernerden. The concentration of hydrogen sulfide was measured by the optical density change after the reaction with p-aminodimethyl aniline dihydrochloride.

The slow growth of purple bacteria *Thiocapsa* sp. was observed on the mineral medium. Some researchers reported that growth of *Thiocapsa roseopersicina* slowed down when cells contained large amounts of stored sulfur. Perhaps, the low intensity of bacterial growth was caused by sulfur storage in cells *Thiocapsa* sp. The highest sulfur content in cells of investigated bacteria was detected under 100 lux of incandescent light. On the fourth day of cultivation *Thiocapsa* sp. accumulated 0,083 g sulfur per 1 g of dry cell weight. But further, amount of intracellular sulfur was decreasing to 0,030 g per 1 g dry of cell weight. At light intensity of 500 lux the sulfur content was 0,055 g/g of dry cell weight on the sixth day of the incubation. As in the previous experiment, bacteria assimilated endogenous electron donor, therefore, on the tenth day of growth cells contained 0,032 g of sulfur per 1 g of dry cell weight. Under illumination of 200 and 1000 lux the highest sulfur contents in the cells *Thiocapsa* sp. was determined only on the last day of cultivation. The value of sulfur reserve was 0,055 and 0,062 g per 1 g of dry cell weight.

For the culture of *Thiocapsa* sp. slow utilization of hydrogen sulfide was inherent. The higher intensity of sulfide utilization occurred under light intensity 1000 and 500 lux. During the cultivation period the concentration of hydrogen sulfide in medium decreased 4,8 and 4,5 times. Under 200 and 100 lux the sulfide contents decreased two times. Furthermore, the sulfide concentration perceptibly reduced in a few days and further have been decreasing slowly. Perhaps, it might be due to the involving of sulfur as an electron donor in the photosynthetic process.

Since sulfur is an intermediate in the conversion of sulfide or thiosulfate, some part of the intracellular sulfur oxidized to sulfate. The sulfates was detected in the beginning of cultivation process and have been accumulated in the medium at the concentration of 1,3-1,6 mM.

Levytska O., Gudz S.

PHOTOSYNTHESIS OF *CHLOROBIVM LIMICOLA* IN THE PRESENCE OF VARIOUS NITROGEN SOURCES

Ivan Franko National University of Lviv
4, Grushevsky street, Lviv, 79005, Ukraine
E-mail: o_levytska@yahoo.com

Previously ability of green sulfur bacteria *Chlorobium limicola* Ya-2002 to assimilate various nitrogen sources was investigated. It was shown that bacteria utilize nitrogen of ammonium, amino group and fix molecular nitrogen. Nitric acid salts are not used as nitrogen source. Addition of nitrates into the medium inhibits nitrogen fixation and ammonia/amino group nitrogen assimilation. Nitrate concentrations that completely repress utilization of different nitrogen compounds and growth of bacteria were detected.

Deficit of nitrogen sources stimulates intracellular glycogen accumulation. Growth inhibiting concentrations of nitrates in the medium provoke essential increasing of glycogen content in the cells even after 24 h of incubation. Elevation of glycogen level in the cells under conditions of nitrogen fixation was the most

substantial. In this case photosynthetic activity of bacteria (the levels of intracellular glycogen and free glucose) was nearly two times higher as compare to those after incubation in the medium with ammonium.

Lipinska A., Gumienny R.

THE ROLE OF ADAM17 IN IMMUNE SYSTEM

Jagiellonian University

ul. Gronostajowa 7, 30-387 Krakow, Poland

E-mail: sekretariat.wbbib@uj.edu.pl

ADAM17 is a member of „A Disintegrin And Metalloprotease” (ADAM) family of sheddases. Family of ADAM combines two functions: adhesion molecules and proteases. They participate in many processes like fusion, adhesion, fertilization or inflammatory diseases. It is well known that ADAM-mediated ectodomain shedding is the most important in regulating cell-cell interactions and cell communication. The first ADAM that was recognized with shedding function (by its identification as the TNF-alpha convertase) was ADAM17. Since then, it has been commonly accepted as an indispensable sheddase in development of mammals. Furthermore ADAM17 is responsible for regulation growth-factor and hormone signaling. The primary contribution of ADA17 to the regulation of cytokine signaling (for example TNF-alpha activation) is the fact that it takes part in shedding of cytokine receptors [A. J. Huovila, 2005]. Due to strong and fundamental role of TNF-alpha as inflammatory process mediator the inhibition of ADAM17 is a potential therapeutic strategy in treatment of some immune disorders.

Mutenko H., Kushkevych I., Hnatush S.

ACCUMULATION OF HEAVY METALS BY THE CELLS OF *DESULFOVIBRIO DESULFURICANS* YA – 11

Ivan Franko National University of Lviv

Hrushevski str., 4, Lviv, 79005, Ukraine

E-mail: Ivan_Kushkevych@ukr.net

The microbial cells require the minor concentrations of some heavy metals ions for their vital activity. The ions of some metals perform physiological functions important to the cell metabolism. At large concentrations their ions can interact with nuclear acids and active centers of some enzymes causing the damage of cytoplasmic membrane integrity.

The permanent bacterial inhabitants of heavy metals polluted waters possess with different mechanisms of resistance to them. These mechanisms are genetically determined. They are the ions accumulation by the surface active cell structures with next intracellular isolation. This bacterial capability may be used for development of new methods to purify the environment from these toxic compounds.

The purpose of our work was to study the accumulation of Cd^{2+} , Cu^{2+} and Pb^{2+} by the cells of *Desulfovibrio desulfuricans* Ya – 11 during three hours of incubation.

For this purpose bacteria were washed with 0.9% NaCl solution and incubated for three hours with the presence of different concentrations of heavy metals salts. The salt of metal was not added to control sample. After the first, second and third hour washed cells were homogenized at ultrasonic desintegrator UZDN – 2T at 22 kHz for 5 minutes at 0°C. The cells fragments were separated by centrifugation for 30 minutes at $10-15 \cdot 10^3$ rpm at 4°C.

The concentration of accumulated metals was determined at ionometer (pH – 150 M) by the ion selective electrodes for Cadmium, Copper and Lead using the calibration curves.

Bacteria piled up the ions of cadmium most intensively at their highest concentration (25 mM). In the presence of low cadmium concentration the accumulation was insignificant. Maximum was observed at the third hour at 25 mM CdSO_4 .

Under the incubation conditions at different concentrations of copper ions a high accumulation was detected. The amount of accumulated metal increased with the copper concentrations. Maximum rate of metal uptake was observed at the second hour at 25 mM ($1.42 \cdot 10^{-4}$ mmol/g cells).

Under the influence of lead bacteria accumulated smaller amounts of metal. In particular, at the third hour of incubation at 15 mM $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ the accumulation was $0.03 \cdot 10^{-7}$ mmol/g of cells, and its maximum was de-

tected at 25 mM. With the increase of incubation time, the metal adsorption by bacteria *D. desulfuricans* Ya – 11 decreased at high concentrations, and no rates of accumulation were observed at low concentrations.

Obviously, bacteria *D. desulfuricans* Ya – 11 uptake copper the most intensively. Perhaps, this microelement is essential for operation of some enzymes. Lead and cadmium are not so biologically useful and therefore are uptaken by the bacterial cells in small amounts.

**Nowakowska A., Cieslak A., Galbas M., Dullin P., Potkacski A.,
Zmora P., Szumacher-Strabel M.**

CAN SECONDARY METABOLITES ACT AGAINST HYPER AMMONIA PRODUCING BACTERIA IN DAIRY COWS RUMEN?

Poznan University of Life Sciences, ul. Wołyńska, 33, Poznań, 60-637, Poland

E-mail: anowakowska@jay.up.poznan.pl

Secondary plants metabolites are component of essential oils which are obtained from plant by distillation. The main action of secondary metabolites is antimicrobial activity. According to Cardozo et al. (2005) and Wallace et al. (2002) essential oils can reduce protein degradation and modulate rumen fermentation by reduction of volatile fatty acid concentration and decreasing the bacteria activity. Reduction of deamination is connected with inhibited growth of specific group of rumen bacteria – hyper ammonia producing bacteria (HAP). The most common species of these bacteria are: *Clostridium sticklandii*, *Clostridium aminophilum*, *Bacteroides ruminicola*, *Peptostreptococcus anareobius*. HAP are present in low numbers in the rumen but are very active in ammonia production (up to 50%). Occurrence of this group of bacteria depends on the diet and geographical latitude. Moreover dose of essential oils and mechanism of action may also affect number and activity of hyper ammonia producing bacteria.

The objective of the present study were to evaluate the effects of three secondary metabolites and three levels of these substances on hyper ammonia producing bacteria population and ammonia production in the rumen fluid *in vitro*.

Ruminal contents were obtained from fistulated cows. Three secondary metabolites were evaluated in four fermenter rumen simulation technique to estimate their effects on hyper ammonia producing bacteria population and ammonia production. Three experiments were conducted. Each treatment was repeated twice in experimental period of ten days each. The supplements (eugenol, limonene, vanillin) were added to a basal diet on three dosage levels (4, 40 and 400 mg/L of rumen fluid). The ammonia was quantified spectrophotometrically using the modified Nessler method as described by Szumacher-Strabel et al. (2002). The DNA of hyper ammonia producing bacteria was isolated according to protocol of Bacterial Genomic DNA Kit. The presence of specific bacteria (*Clostridium sticklandii*, *Clostridium aminophilum*, *Bacteroides ruminicola*, *Peptostreptococcus anareobius*) was determined by Polymerase Chain Reaction. Cycling conditions were different for each bacteria. Primers were used for amplification of chaperonin (cpn60) and proC gene. The PCR products were analyzed on agarose gels (1,5%) after staining with ethidium bromide.

The result will be presented.

Nowakowska A., Cieslak A., Potkacski A., Szumacher-Strabel M.

EFFECT OF ESSENTIAL OILS ON DAIRY COWS RUMEN MICROBIAL MASS AND RUMEN FERMENTATION PARAMETERS *IN VITRO*

Poznan University of Life Sciences, ul. Wołyńska, 33, Poznań, 60-637, Poland

E-mail: anowakowska@jay.up.poznan.pl

Essential oils can be natural alternative to the ionophore antibiotics in ruminants nutrition because of their antimicrobial properties. The addition of essential oil can shift the microbial fermentation in the rumen by increasing the propionate concentration, decreased ammonia production and microbial population. Essential oils have been shown to affect ruminal fermentation but the effect is dose dependent. Previous studies reported that some essential oils (*i.e.*, clove oil, bud oil oregano

oil, cinnamon oil) reduced ammonia concentration and total volatile fatty acid at high doses whereas low doses (3 mg/L of rumen fluid *in vitro*) had no influence.

The objective of the study was to determine the effects of two different doses of essential oils on rumen fermentation *in vitro*.

Ruminal contents were obtained from fistulated cows and squeezed through four layers of cheese-cloth into four fermenter rumen stimulation techniques. Two experiments were conducted. Each treatment was repeated twice in experimental period of ten days each. The supplements (clove oil, fir oil, vanillin oil) were added to a basal diet on two dosage levels (4 or 40 mg/L of rumen fluid). The ammonia was quantified spectrophotometrically using the modified Nessler method as described by Szumacher-Strabel et al. (2002). The concentration of volatile fatty acid was determined by gas chromatography (VARIAN CHROMAPACK, CP-3380) according to Tangerman and Nagengast (1996). Analysis of fatty acid methyl esters was performed using gas chromatography (VARIAN CHROMAPACK, CP-3380). Samples for ciliates counts were collected and fixed with an equal volume of 8 % solution of formaldehyde. Ciliates were counted under a light microscope according to Coleman (1978). Bacteria were counted using *Thoma* chambers. The obtained data (separately for each experiment) were subjected to variance analysis using the general linear model (GLM) SAS procedure (2006). Multiple comparisons among means were carried out by Duncan's test. Significance was declared at $P < 0.05$.

Essential oil had negligible effect on ammonia concentration in both experiment, however, tendency to decrease ammonia concentrations in fir oil (40 mg/L) supplemented groups was observed. High dose of fir oil increased numbers of bacteria by 34 % and methane production by 43 % relatively to control group.

Preliminary conclusion suggests that concentration of essential oils in the diet may be significant for rumen fermentation processes.

Sanina A.

EFFECTS OF BACTERIAL CPG DNA AND MELANOMA-DERIVED GP50 ON MOUSE DENDRITIC CELL MATURATION AND ACTIVATION OF SYNGENEIC T-CELL BY DENDRITIC CELLS

Taras Shevchenko Kyiv National University, Ak. Glushkova av., 2, Kyiv, 03022, Ukraine

E-mail: Sanina_Anna@bigmir.net

The one of the most promising immunotherapeutic approaches in cancer treatment is developing of antigen (Ag)-loaded dendritic cell (DC)-based vaccines. However, the major question in this approach is the optimal choice of relevant Ag and effective adjuvant.

In present report DCs were co-incubated with antigen composition (gp50) obtained from syngeneic B16 melanoma cells, bacterial CpG DNA or their combination. Early changes of maturation/activation status of DCs and T cells co-cultured with treated DCs were investigated. The studies were designed to elucidate the possibility and the reasonability of gp50-loaded DC-based vaccine development for its further immunotherapeutic application.

DCs were routinely obtained from mouse bone-marrow cells and incubated for 3 hours with gp50, bCpG DNA alone or their combination. Then one part of treated DCs was co-incubated with mouse splenocytes. The cell surface marker expression of DCs and T cells was determined by flow cytometry. Amounts of TNF- α in supernatants from one-day cultures were measured using ELISA.

Decrease of CD11b expression on bCpG DNA-treated DCs and increase of CD11b expression on bCpG DNA+gp50- and gp50-treated DCs as compared with control DC ($P < 0.01$) have been obtained. In the same time, the number of CD11b⁺-cells was markedly higher after incubation with gp50 comparing to bCpG DNA+gp50 one. The number of CD86⁺-cells was 2-fold increased in all experimental cases in comparison with control values ($P < 0.01$). The number of CD44⁺-cells was markedly increased in case of bCpG DNA+gp50 cultured DCs comparing to intact, and bCpG DNA, and gp50 cultured DCs ($P < 0.01$). The unchangeable amount of the CD54 expressing cells was observed in all cases.

The phenotype of T cells was gated on CD3⁺-cells. Markedly increased numbers of CD4⁺ T cells ($P < 0.01$) were observed in all cases co-cultivation splenocytes with differently treated DCs. The number of CD8⁺ T cells was higher in splenocytes cultured with bCpG DNA+gp50- and gp50-treated DCs vs splenocytes with intact DCs or with bCpG DNA-incubated DCs ($P < 0.05$). Expression of CD25 and

CD69 was elevated in all cases vs control ($P < 0.01$). No differences in CD69 expressed cells were observed between examined groups. There have been observed elevated production of TNF- α in all cases vs control ($P < 0.01$), and it was the most increased in splenocytes cultured with gp50 only.

Tarasenko D., Pirog T., Shevchuk T.

**SYNTHESIS OF TREHALOSE MYCOLATES BY *RHODOCOCCLUS ERYTHROPOLIS* EK-1:
EFFECT OF GROWTH CONDITIONS AND CARBON SOURCE**

National University of Food Technologies, Volodymyrska St., 68, Kyiv, 01033, Ukraine

E-mail: tapirog@usuft.kiev.ua

It was established the opportunity of the surface-active substances (SAS) synthesis intensification by *Rhodococcus erythropolis* EK-1 using ethanol or hexadecane as carbon sources and adding C₄-dicarboxylic acids (precursor of gluconeogenesis), sodium citrate (the regulator of lipids' synthesis). Though it is unknown synthesis of what SAS' components increases with addition of its precursors. *R. erythropolis* EK-1 synthesizes free and associated with microbial cells SAS. It was determined that SAS are complex substances that consist of glyco-, phospho-, neutral lipids with substances of polysaccharide-protein origin. Glycolipids are presented by trehalose mono- and dimycolates.

The aims of the research: to explore the features of trehalose mycolates synthesis by *R. erythropolis* EK-1 in different growth conditions using ethanol and hexadecane as main carbon sources. To be succeed we analyzed the activity of key enzymes that play main role in synthesis of these glycolipids - phosphoenolpyruvate synthetase (PEP-synthetase), PEP-carboxykinase and trehalose-phosphate synthase.

It was detected the activity of trehalose-phosphate synthase during cultivations with ethanol and hexadecane, but the activity of that enzyme was ten time higher in experiments with hexadecane than ethanol.

It was established three-five times increasing activity of trehalose-phosphate synthase by addition of fumarate and citrate in the media with hexadecane comparing to control experiment (without any precursors); while activity of PEP-synthetase was increased only after synchronous precursors' addition.

The behavior of exploring enzyme activity was different while cultivating *R. erythropolis* EK-1 with ethanol and hexadecane respectively. Thus, it was established twice reduction of the activity of PEP-carboxykinase and three time increasing the activity of PEP-synthetase in cultivation experiments with addition of citrate and fumarate on ethanol comparing to control (no SAS' precursors). The activity of trehalose-phosphate synthase in ethanol media was increased only by fumarate addition. It was detected the reduction of yield and production of SAS that correlated with low activity of trehalose-phosphate synthase and corresponding reduction of trehalose mycolates. The increasing of emulsifying index (E₂₄) and activity of PEP-synthetase could argue the enhancement of synthesis of carbohydrate origin emulsifier. The increasing SAS' concentration was correlated with activity of trehalose-phosphate synthase and PEP-synthetase growth, that could testify the increased synthesis of trehalose mycolates. The increasing of all indexes of SAS synthesis after synchronous addition of fumarate and citrate in ethanol media could be argued the increasing of emulsifier and surface-active glycolipids synthesis but not trehalose mycolates. So addition of fumarate and citrate (separately or synchronous) in the media with hexadecane, and fumarate in the media with ethanol conducted intensification of surface-active trehalose mycolates synthesis that testified the enhancement of the activity of gluconeogenesis enzymes and trehalose-phosphate synthase.

Vasylyv O., Kushkevych I., Hnatysh S.

**EFFECTS OF SOME HEAVY METALS SALTS ON GLUTATHIONE CONTENT IN THE
CELLS OF *DESULFUROMONAS ACETOXIDANS***

Ivan Franko National University of Lviv, 4, Grushevsky street, Lviv, 79005, Ukraine

E-mail: Ivan_Kushkevych@ukr.net

Glutathione (GSH: l- γ -glutamyl-l-cysteinylglycine) plays the main role of redox buffer and antioxidant, that has a great sense in supporting thiol-disulfide equilibrium in the proteins and also in the defense of cells against oxidative stress and influence of different toxic compounds. Recently

new wave of investigations is directed for clarifying the role of glutathione in gene expression, cell signaling, regulation of apoptosis, controlling the activity of enzymes and other cell processes.

The aim of our work was the investigation of some biochemical properties of *Desulfuromonas acetoxidans* bacteria under influence of different concentrations of zinc sulfate, cadmium sulfate and lead nitrate.

Bacteria were grown during 1, 2 and 3 days with different concentrations of heavy metals (0.5, 1.0, 1.5, 2.0 and 2.5 mM). The control samples didn't contain any heavy metals. After the appropriate time of growth cells were washed, disintegrated on the ultrasonic homogenizer UZDN-2T at 22 kHz at 0°C during five minutes. Fragments of cells were sedimented by centrifugation at 12,000-15,000 rotations per minute at 4°C during 30 minutes. 2 ml of 1.5 μM DTNB in 0.1 M potassium-phosphate buffer and 1 ml of distilled water was added to 1 ml of received supernatant. The optical density of obtained solution was measured on spectrophotometer SF-46. Concentration of glutathione inside the cells was calculated with special formula.

Results showed, that the increase of ZnSO₄ concentration from 0.5 to 2.0 mM in growing medium cause the increase of glutathione content in the cells. The maximal concentration of this polypeptide was seen under concentration of metal 2.0 mM in the growth medium on the first day. During the second and the third days of growth the content of glutathione in the cells of *Desulfuromonas acetoxidans* decreased for 6 and 8 times respectively at this concentration of metal, comparable with the first day of growth.

Addition of different CdSO₄ concentrations into growth medium showed that the content of glutathione inside the cells of bacteria enhanced with the increase of cadmium salt concentration from 0.5 to 2.0 mM. Similarly to previous investigation, the concentration of this polypeptide was maximal under the concentration of metal 2.0 mM in the growth medium after the first day. During the second and the third days of growth the content of glutathione in the cells of *Desulfuromonas acetoxidans* decreased for 2 and 2.5 times respectively with this concentration of metal, comparable to the first day of growth.

Increase of Pb(NO₃)₂ concentration in the growth medium from 0.5 to 1.5 mM caused the increase of glutathione level, but under higher concentrations of metal the content of this polypeptide in the cells was decreasing.

In that way, increase of the metal salts concentrations into the growing medium causes the increase of glutathione content in the cells of *D. acetoxidans* during the first, the second and the third days of growth, but the higher content of this polypeptide was revealed on the first day. These results can be explained by the fact that after the first influence of stress factors the cells can alter their own metabolism, that results in their defense against the toxic influence of heavy metals by synthesis of the large amount of antioxidants, especially glutathione. After the prolonged action of heavy metals on the cells of *D. acetoxidans* they lose their ability for self-defense, their biosynthetic processes become inhibited and this results in the increase of glutathione formation inside the cells. Probably, similar inhibition is observed with the increase of heavy metals concentration in the growth medium.

Zmora P., Cieslak A., Szumacher-Strabel M., Porzucek F., Nowakowska A., Michalowski T.

EFFECT OF C18:3 ON METHANOGENESIS IN *EPIDINIUM ECAUDATUM* CULTURE

Poznan University of Life Sciences
ul. Wołyńska 33, 60-637 Poznan, Poland
E-mail: pawelzmora@gmail.com

Almost to 18% of the greenhouse effect is contributed by methane, the second main greenhouse gas. Its production in the digestive tract of farm animals is estimated to be responsible for 22% of the anthropogenic sources and is mainly due to the rumen fermentation. Moreover, the methane produced reduces the energy available for the animal. Up to 10% of the gross energy in the feed is lost as methane. Thus managing the microbial activity of the rumen to reduce the methane production is an important goal for nutritionists.

Methanogenesis in the ruminants can be reduced by dietary manipulation and numerous plant component. The inhibitive effect on methanogenesis showed secondary metabolites, such as

saponin, tannin, essential oil). One of the most interesting components, which can affect on ruminal methanogenesis, are fatty, i.e. C18:3 (linolenic acid).

The aim of our study was to investigate the effect of linolenic acid on methanogenesis in *Epidinium ecaudatum* culture.

The experiment was carried out with a continuous culture of *Epidinium ecaudatum*. The basal diets consisted of meadow hay, gluten, cellulose and barley meal and was supplemented with 0%, 0,1%, 0,5%, 2,5% and 5% of linolenic acid (C18:3). The probes were collected in 1, 4, 8, 12, 16, 20, 24 and 28 day of incubation. The samples were analyzed for number of *Ciliate*, bacteria, methanogens (*Archea*). The protozoa were counted in a 100 µl drop of rumen fluid. For counting bacteria, Thoma chamber was used. The fluorescence *in situ* hybridization was performed to quantify the methanogens. In experiment specific probes was performed for *Archea* S-S-Arc-0915-a-A-20. The fermentation gases were analyzed for the concentration of CH₄. Methane concentration in the samples was determined by gas chromatography with Scott 14 (Supelco) as standard, using gas chromatograph SRI 310C.

Preliminary results are showing the fall in the production of methane and numbers of methanogens. The final results will be presented in the conference.

**Zmora P., Cieslak A., Szumacher-Strabel M., Nowak B., Walkowiak A., Hejdysz M.,
Nowakowska A., Lesiecki M., Marczewski B., Michalowski T.**

FATTY ACIDS PROFILE IN *EPIDINIUM ECAUDATUM* CULTURE SUPPLEMENTED WITH C18:3

Poznan University of Life Sciences
ul. Wolynska 33, 60-637 Poznan, Poland
E-mail: pawelzmora@gmail.com

The rumen microbial mass may contain up to 50 % of protozoa. It is suggested that protozoa may be a significant source of unsaturated fatty acids absorbed in the ruminant gut. According to Yóchez-Ruiz et al. (2007) protozoa cells may also protect unsaturated fatty acids from biohydrogenation by incorporating them into structural phospholipids. On the other hand unsaturated fatty acids may have a toxic effect on protozoa. There is also evidence on stimulatory effect of particular long-chain fatty acids on ruminal protozoa. According to our recent findings, rumen ciliates showed a variable metabolic response depending on the form and concentration of supplemented fatty acid. The objective of the present study was to investigate the profile of unsaturated fatty acids in *Epidinium ecaudatum* culture supplemented with linolenic acid.

The ciliates, *Epidinium ecaudatum* were isolated from the sheep rumen fluid and cultured *in vitro* according to the protocol described by Michaiowski et al. (1986) in a chemically defined medium (g/l: K₂HPO₄ 6.3, KH₂PO₄ 5.0, NaCl 0.65, CaCl₂·6H₂O 0.09, MgSO₄·7H₂O 0.09 and CH₃COONa 0.75 Michaiowski et al., 1999). The feed was composed of the following powdered components: meadow hay 60%, wheat gluten 16%, crystalline cellulose 12% and barley flour 12%. The basal medium comprised 40 ml of culture medium and 15 mg of the substrate, given alone (control) or supplemented with 0.1, 0.5, 2.5 or 5 % of linoleic acid (experimental). The experiment lasted 28 days. The post culture medium was collected on the 1, 4, 8, 12, 16, 20, 24 and 28 day of incubation. Fatty acid profile was analyzed according to Cieślak et al. (2009). Also pH and volatile fatty acids (VFA) were analyzed.

The result will be presented in the conference.

МОЛЕКУЛЯРНА ТА КЛІТИННА БІОЛОГІЯ MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY

Александрова О.

ДНК МАРКЕРИ ДЛЯ ТЕСТУВАННЯ ГІБРИДІВ СОНЯШНИКА

Одеський державний університет імені І. І. Мечникова

Шампанський провулок, 2, м Одеса, 65058, Україна

E-mail: Alexandrova88@list.ru

ДНК технології, до складу яких входить дослідження поліморфізму ДНК, у теперішній час дозволяють нам на новому рівні вирішувати ряд практичних питань селекції.

Для підвищення ефективності гібридної селекції соняшнику необхідна оцінка генетичної однорідності в межах лінії, залучення в схрещування генетично видалених ліній, а також високий рівень гібридності насіння F1. За наявності поліморфізму між батьківськими формами спектр гібрида F1 об'єднує обидва батьківських алелів.

Генетично однорідні лінії – застава здобуття насіння F1 з високим (не менше 98 %) рівнем гібридності. Стандартні підходи (грунт-контроль, електрофорез запасних білків і ізоферментів) не завжди дозволяють надійно встановлювати типовість і гібридність і повинні доповнюватися методами які дозволяють генотіпування на рівні ДНК. Монолокусна поліаллельна маркерна тест-система могла б стати основою методики визначення генетичної чистоти інбредних ліній і рівня гібридності партій насіння простих гібридів F1.

Поліморфізм селекційних форм соняшнику раніше виявляли за допомогою довільний праймірованої ПЦР (Сиволап, 1998), ізоферментів (Попов, 2002). Для визначення типовості інбредних ліній і якості гібридного насіння (рівня гібридності) зазвичай використовували електрофорез запасного білка – геліантіна (Попереля, 2000). Проте, ці маркерні системи мають ряд недоліків: незначне число локусів в геномі соняшнику, невисокий рівень поліморфізму, недостаточний рівень відтворюваності і домінуючий характер спадкоємства маркерів.

Зручним інструментом для молекулярно-генетичської характеристики генотипів соняшнику є аналіз поліморфізму ампліфіцированих в ПЦР мікросателітних послідовностей ДНК (Солоденко, 2004). У цій роботі досліджений поліморфізм мікросателітної ДНК інбредних ліній і простих гібридів соняшнику з метою оцінки можливості використання даної системи маркерів для визначення гібридності насіння соняшнику F1.

Матеріалом для дослідження служили 4 інбредних ліній соняшнику (X 526, Сх 1006, Сх 908, X 762), а також 2 простих гібрида F1 (Еней, Кий), внесених до Реєстру сортів рослин України 2007 р.

За результатами мікросателітного аналізу початкових інбредних ліній відібрані локуси поліморфні для батьківських пар. За наявності поліморфізму між батьківськими формами, спектр гібрида F1 повинен об'єднувати обидва батьківських алелів.

Отримані аллельні характеристики для гібрида Еней по локусам ORS 78, ORS 509, ORS 599, ORS 307, ORS 533, ORS 1024, ORS 1036; для гібрида Кий по локусам ORS 78, ORS 509, ORS 815, ORS 1024, ORS 364, ORS 1036.

Показано, що в Днк-спектрах простих гібридів поєднуються алелі батьківських форм, що підтверджує їх гібридну природу. Це дає можливість використовувати мікросателітний аналіз для визначення гетерозиготності і рівня гібридності партій насіння гібридів F1.

Богатирьова О.^{1,2}, Геращенко А.², Кашуба В.², Риндич А.²

ВИВЧЕННЯ ЗМІН ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ З ХРОМОСОМИ ЛЮДИНИ В ЕПІТЕЛІАЛЬНИХ ПУХЛИНАХ НИРОК.

¹*Київський Національний університет імені Тараса Шевченка*

²*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України*

Вул. Заболотного, 150, м. Київ, 03043, Україна

E-mail: ol_bogatyriova@ukr.net

Рак залишається однією з найскладніших проблем сучасної медицини і як причина смертності поступається лише серцево-судинним захворюванням. Рак нирок знаходиться на десятому місці серед найбільш поширених видів раку і складає приблизно 3% усіх онкологічних

захворювань. Щорічно у світі реєструється близько 190 тис. нових випадків раку цієї локалізації. Геном людини має кілька десятків пухлинних супресорів та мутаторних генів та протоонкогенів. Частина з них вже ідентифікована, для багатьох відомі внутрішньоклітинні функції. За даними літератури відомо, що найбільша кількість змін під час розвитку пухлини відбувається в 3 хромосомі, що й було поштовхом для вибору 3 хромосоми для досліджень епітеліальних пухлин нирок.

Відомо, що гени мають безліч генетичних і епігенетичних змін в епітеліальних пухлинах нирок. Важливим є знайти такі гени 3 хромосоми людини, що асоційовані з цими змінами та порівняти їх властивості з нормою. Існує ряд методів широкомасштабного скринінгу генетичних та епігенетичних порушень у геномі та змін експресії генів при розвитку та прогресуванні пухлин: мікроаррей-аналіз, SAGE метод, ПЛР у реальному часі та напівкількісний ПЛР. Наші дослідження базуються на використанні нового методу NotI мікрочипів (розроблений сумісно з Каролінським інститутом), що полягає у використанні NotI-геномних клонів, отриманих методом геномної субстракції CODE (Cloning Of Deleted) для скринінгу епігенетичних /генетичних змін генів/локусів 3 хромосоми людини у пухлинах нирок. Такі мікрочипи дозволяють одержувати одночасно унікальну інформацію про генетичні й епігенетичні порушення у ракових клітинах.

Метою нашої роботи було визначити відносний рівень експресії генів 3 хромосоми людини, які за даними Not-I мікрочипів мають зміни більш ніж 30 % у групі епітеліальних пухлин нирок.

Об'єктом дослідження були хірургічно видалені пухлини нирок та гістологічно нормальні припухлинні тканини (умовна норма), надані інститутом урології НАН України.

Було проведено аналіз генетичних/епігенетичних змін генів 3 хромосоми людини у злоскісних епітеліальних пухлинах нирок методом Not-I мікрочипів. З понад 20 генів/локусів, що мають більш ніж 30% генетичних/епігенетичних змін у пухлинах нирок на основі їх функції та можливої участі у канцерогенезі було відібрано 3 гени: NKIRAS, RARB та ITGA9. Відносна експресія цих генів вивчалась методом напівкількісної ПЛР у 10-12 зразках злоскісних пухлин нирок 2 стадії та припухлинних тканинах. У якості референсного гена було відібрано ген TBP, який за даними літератури не змінює рівень експресії в епітеліальних пухлинах нирок. Проведені дослідження показали різний ступінь зниження експресії досліджуваних генів, що підтверджується даними SAGE для генів NKIRAS та ITGA9. Дані напівкількісного ПЛР аналізу про зниження експресії генів підтверджують попередні Дані Not-I мікрочипів про наявність генетичних/епігенетичних змін більш ніж 30% пухлин у генах NKIRAS, RARB та ITGA9 були кореляють зі зниженням рівня експресії в цих генах методом напівкількісного ПЛР аналізу.

Надалі планується: 1) провести детальний аналіз експресії генів/ локусів, які за даними Not-I мікрочипів мають зміни більш ніж 30 % у групі епітеліальних пухлин нирок; 2) провести аналіз SAGE бібліотек для всіх хромосом людини, що суттєво змінюють свою експресію в пухлинах нирок та відібрати гени, враховуючи їх функції та можливу участь у канцерогенезі; 3) провести детальне вивчення змін експресії цих генів методом ПЛР у реальному часі та напівкількісним ПЛР.

Верем'єва М., Негруцький Б.

ЕКСПРЕСІЯ МУЛЬТИСУБОДИНИЧНОГО ФАКТОРУ ЕЛОНГАЦІЇ ТРАНСЛЯЦІЇ 1 (EEF1) ПРИ КАРЦИНОМІ ШЛУНКУ.

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

Вул. Заболотного, 150, м. Київ, 03143, Україна

E-mail: vermarina@list.ru

Еукаріотний фактор елонгації трансляції 1 (eEF1) є одним з основних компонентів трансляційного апарату клітини, який бере участь в елонгації білкового ланцюга. eEF1 складається з чотирьох субодиниць: eEF1A, eEF1Ba, eEF1B β і eEF1B γ . Існує дві ізоформи субодиниці eEF1A (A1 і A2), які є тканиноспецифічними. Експресія субодиниці eEF1A2 спостерігається в тканинах скелетних м'язів, серця та нейронах, в усіх інших тканинах експресується eEF1A1. Нещодавно винайдено, що наявність експресії eEF1A2 в тканинах, які не є для неї специфічними, робить цей білок онкогенним. В літературі є також дані про підвищений рівень експресії мРНК тих або інших субодиниць eEF1 при ракових пухлинах різної локалізації,

однак систематичний аналіз експресії різних субодиниць eEF1 ще досі не проводився. Крім того, відсутня інформація про експресію eEF1 комплексу в карциномі шлунка.

Експресію eEF1A, eEF1Ba, eEF1Bb та eEF1Bg було досліджено в 25 зразках карцином шлунку людини та відповідної до них норми. Оскільки у наявності були тільки антитіла проти eEF1A1/2, нами було отримано поліклональні антитіла проти eEF1Ba, eEF1Bβ та eEF1Bg.

За допомогою Вестерн блот аналізу ми спостерігали збільшену експресію eEF1A у 11 випадках (44%), eEF1Ba і eEF1Bβ у 7 випадках (28%) та eEF1Bγ у 9 випадках (36%) з 25 карцином шлунку відносно до відповідної нормальної тканини.

Не зважаючи на стехіометрію субодиниць в комплексі eEF1B (1:1:1), рівень експресії різних субодиниць не завжди є координованим. Це може свідчити про можливі нові функції індивідуальних субодиниць eEF1 комплексу, які пов'язані з пухлиноутворенням.

Герашенко Д., Самойленко А., Басараба О., Винницька Б., Дробот Л.
ПОСИЛЕННЯ EGF-ІНДУКОВАНОЇ АКТИВАЦІЇ КІНАЗИ АКТ В КЛІТИНАХ
АДЕНОКАРЦИНОМИ ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ ЛІНІЇ MCF-7 ПРИ НАДЕКСПРЕСІЇ
АДАПТЕРНОГО БІЛКА RUK/CIN85

Інститут біохімії ім. О.В Палладіна Національної академії наук України
Вул. Леонтовича, 9, Київ, 01601, Україна
E-mail: secretar@biochem.kiev.ua

Мета та завдання: Адаптерний білок Ruk/CIN85 містить 3 SH3 домени, пролін-багаті мотиви та С-кінцевий суперспіралізований „coiled-coil” район і відіграє важливу роль у контролі апоптозу, ендцитозу рецепторних тирозинових кіназ, транспорту везикул, регулюванні активності P13-кінази, передачі сигналів у Т-клітинах, цитоскелетних перебудовах та ін. Аналіз доступних даних дає підстави стверджувати, що Ruk₁/CIN85 відіграє важливу роль у підтриманні гомеостазу клітин, а також може бути залучений до канцерогенезу. В клітинах аденокарциноми грудної залози лінії MCF-7 - P13K/Akt-залежне сигналювання, що індукується епідермальним фактором росту (EGF), залучене до контролю їх рухливості та інвазивності. Метою даної роботи було проаналізувати особливості EGF-індукованої активації P13K/Akt кіназного сигнального шляху в клітинах MCF-7, що стабільно надекспресують повнорозмірну форму адаптерного білка Ruk/CIN85.

Матеріали та методи: Для експерименту було використано клони клітин аденокарциноми грудної залози людини лінії MCF-7 зі стабільною надекспресією повнорозмірної форми Ruk/CIN85. Клітини стимулювали EGF (10 нг/мл) протягом 1, 5, 10 та 30 хвилин. Отримані клітинні лізати аналізували Вестерн-блот аналізом з використанням антитіл до активованої (pAkt) та загальної (tAkt) форм кінази.

Результати: За результатами Вестерн-блот аналізу максимальне активування Akt-кінази в клітинах дикого типу спостерігається на 5 хв інкубації з EGF з наступним зниженням активності до 30 хв. Проте у клітинах MCF-7, що стабільно надекспресують Ruk/CIN85, детектується значно потужніша активація Akt вже на 1 хв., причому вміст активованої форми кінази залишається високим до 30-ої хв інкубації з фактором росту.

Висновок: отримані дані дозволяють припустити, що адаптерний білок Ruk/CIN85 може бути залученим до посилення трансформувального потенціалу аденокарциномних клітин грудної залози.

Зубова О., Зубов П.

ЗМІНА ЛІПІДНОЇ АСИМЕТРІЇ ТА ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ ЯДРОВІСНИХ КЛІТИН
КОРДОВОЇ КРОВІ ПІД ВПЛИВОМ КРІОПРОТЕКТОРА ПЕО-1500
ТА РЕЖИМІВ ЗАМОРОЖУВАННЯ

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України
Вул. Переяславська, 23, м. Харків, 61015, Україна
E-mail: oksz1@rambler.ru

Останнім часом кордова кров все більше використовується у клінічній практиці. Це обумовлює необхідність створення її запасів та довгострокового зберігання, що можливо лише

при використанні технології кріоконсервування. Для розробки ефективних методів заморожування клітин необхідне вивчення ролі факторів, що впливають на їх збереженість та життєздатність на усіх етапах технологічного процесу кріоконсервування, починаючи від температури обробки клітин кріопротектором і закінчуючи швидкістю заморожування.

У наших попередніх роботах було встановлено, що використання кріопротектора ПЕО-1500 та спеціально розробленого режиму заморожування дозволяє ефективно кріоконсервувати цільну кордову кров зі збереженням в ній одночасно еритроцитів та ядровмісних клітин разом з біологічно активними речовинами плазми.

Відомо, що наслідком процедур заморожування-відігрівання може бути загибель клітин в результаті реалізації каскадного механізму апоптозу, початкова стадія якого для клітин супроводжується втратою ліпідної асиметрії плазматичної мембрани, що призводить до експонування фосфатидилсерину на поверхні клітини. У зв'язку з цим було проведено оцінку апоптозу ядровмісних клітин методом проточної цитофлуориметрії з використанням маркера анексинV, який має високоспецифічну спорідненість до фосфатидилсерину.

Було встановлено, що кріоконсервування викликає збільшення кількості анексинV⁺-клітин, у порівнянні як з контролем, так і з клітинами, що були оброблені ПЕО-1500. При цьому досить великий процент мічених анексином клітин (до 23%) у першу чергу обумовлений значним відсотком анексинV⁺-гранулоцитів, у той час як лише у незначній частині лімфоцитів і моноцитів відбувається порушення ліпідної асиметрії.

Для оцінки стадій апоптозу було використано метод, який базується на комбінації анексинV та 7-AAD - барвника, що легко проходить у клітин на пізніх стадіях апоптозу або некрозу, але не може проникнути до клітин з інтактною мембраною на початковому етапі апоптозу.

Було встановлено, що кріоконсервування суспензії клітин викликає зростання проценту як мічених анексином клітин, так і 7-AAD. При цьому кількість клітин, що знаходяться на початковій стадії апоптозу, хоча й зростає, проте залишається досить незначною.

Аналіз даних по популяціям показав, що кожна з них має свої особливості у характері та ступені дезорганізації клітинної структури після розморожування. Залежність від режиму кріоконсервування виражається лише у зростанні відносної кількості клітин, що помічені певним чином, але в основному не змінює „якість” мічення. Так, у популяції лімфоцитів переважають клітини, забарвлені 7-AAD, але не мічені анексином. Частка клітин тільки з порушеною асиметрією лишається зовсім незначною. Відносно моноцитів можна сказати, що кріоконсервування викликає зростання усіх трьох варіантів зв'язування з ДНК барвником та анексином. В популяції гранулоцитів переважну більшість після розморожування складають анексин⁺/7-AAD⁺-клітини. Можливо, виявлені особливості дезорганізації структури даних популяцій клітин можна пояснити їх морфо-функціональними відмінностями, і, як наслідок, загибель клітин у результаті кріоконсервування може проходити різними шляхами.

Каменська А., Одинець К., Корнелюк О.

БІОІНФОРМАЦІЙНИЙ АНАЛІЗ МУТАНТНИХ ФОРМ ТИРОЗИЛ-ТРНК СИНТЕТАЗИ, АСОЦІЙОВАНИХ З НЕЙРОПАТІЄЮ ШАРКО-МАРІ-ТУС ТИПУ С

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

Вул. Глушкова 2, м. Київ, 03022, Україна

E-mail: nastiona@rambler.ru

Структурно-функціональні дослідження еукаріотичної тирозил-тРНК синтетази (ЕС 6.1.1.1) показали, що крім основної функції аміноацилювання гомологічної транспортної РНК у процесі трансляції цей фермент також має рРНК-зв'язуючі та цитокінподібні властивості. Залучення новітніх методів дослідження молекулярної генетики спадкових захворювань людини дало змогу встановити зв'язок між появою трьох незалежних мутацій в гені тирозил-тРНК синтетази та проявами домінантної сенсомоторної аксональної нейропатії Шарко-Марі-Тус типу С.

Хвороба Шарко-Марі-Тус (пероніальна аміотрофія) являє собою групу спадкових захворювань, що характеризуються дегенерацією периферичних нервових волокон з частотою

зустрічальності 1:2500. Проміжна аутосомно-домінантна форма нейропатії ШМТ типу С характеризується проміжними швидкостями нервової провідності та гістологічними ознаками як дегенерації, так і дімієлінізації аксонів. Ідентифіковано локус 1 p34-p35 хромосоми 1, пов'язаний з DI-CMTC, який відповідає гену YARS, що кодує цитоплазматичну тирозил-тРНК синтетазу людини. До розвитку нейропатії типу С призводять три незалежні мутації в гені тирозил-тРНК синтетази. Для цих мутацій, а саме: точкових мутацій Gly41Arg та Glu196Lys і делеції 153-156delVKQV було проведено біоінформаційний аналіз впливу заміни залишків амінокислот на властивості димеру каталітичного модуля тирозил-тРНК синтетази. В результаті проведеного аналізу було виявлено, що всі мутації вносять зміни у значення pI білка, особливо суттєвою ця зміна є у випадку мутації Glu196Lys (зміна з 6.61 до 7.14), оскільки в цьому випадку локальний негативний заряд змінюється на позитивний, що може суттєво вплинути на характер зв'язування синтетази з тРНК. У випадку цієї мутації також зменшується кількість сайтів фосфорилування тирозину на поверхні молекули. Для всіх трьох мутацій виявлено зміну кількості сайтів розщеплення білка різними протеазами. Делеція 153-156delVKQV розташована на поверхні петлі, що входить до складу сегмента, відповідального за впізнавання акцепторного стебла тирозинової тРНК і скорочує довжину петлі з 13 до 9 амінокислотних залишків. Варто зазначити, що при мутації Gly41Arg Arg41 може зв'язуватись з триптофаном-40, суттєво змінюючи флуоресцентні властивості білка.

Слід зазначити, що всі три мутації можуть викликати некоректний фолдинг тирозил-тРНК синтетази зі зменшенням її розчинності та підвищенням можливості утворення макромолекулярних агрегатів. Можливий також вплив змін молекулярної поверхні цих мутантних форм на характер взаємодії тирозил-тРНК синтетази з субстратами чи на виникнення нових нетипових взаємодій з іншими клітинними компонентами.

Кириченко В., Нагібін В., Тумановська Л., Досенко В.

ВПЛИВ ПОХІДНИХ МАЛЕІМІДУ НА НЕОНАТАЛЬНІ КАРДІОМІОЦИТИ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ АНОКСІЇ-РЕОКСИГЕНАЦІЇ

Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України

Вул. Богомольця, 4, Київ, 01024, Україна

КНУ імені Тараса Шевченка

E-mail: victoria30@mail.ru

На сьогодні найбільшу смертність серед населення спричиняють ішемічна хвороба серця та онкологічні захворювання, тому досі актуальним залишається пошук, розробка та дослідження нових лікарських засобів для лікування вказаних патологій. Нами досліджено похідні малеїміду загальної формули 1-(4-R1-бензил)-3-хлор-4-(R2-феніламіно)-1Н-пірол-2,5-діон (MI-1, MI-2), що є потенційними протипухлинними препаратами за рахунок здатності пригнічувати протеїнкінази сигнальних шляхів. Подібні препарати, що застосовуються в клінічній практиці, часто проявляють високу кардіотоксичність, через це важливим є дослідження характеру впливу таких сполук на нормальні клітини організму, зокрема, клітини серця. Окрім того, проведені нами попередні дослідження показали, що MI здатні модулювати активність протеасоми *in vitro*. А виходячи з того, що інгібітори протеасоми спричиняють протективну дію на клітини серця при ішемії-реперфузії, то цікавим є дослідження впливу MI на клітинну загибель в культурі неонатальних кардіоміоцитів в нормі та при відтворенні аноксії-реоксигенації. Остання є моделлю ішемії-реперфузії – патологічного процесу, при якому в ділянці ішемії відбувається загибель кардіоміоцитів запрограмованим (апоптоз) та незапрограмованим (некроз) шляхами.

Метою досліджень було визначення співвідношення апоптотичних, некротичних та живих кардіоміоцитів в культурі в нормі та при відтворенні аноксії-реоксигенації за впливу зазначених похідних малеїміду. Дослідження проводились на ізольованих кардіоміоцитах дводенних щурів. MI концентраціях 5, 10 та 30 мкмоль додавали до середовища на 1,5 год, та за 15 хв до

початку аноксії. Оцінка апоптозу и некрозу кардіоміоцитів проводилась методом прижиттєвого подвійного фарбування флуоресцентними барвниками (Hoechst 33342, пропідіум йодид), ідентифікацію проводили за допомогою люмінесцентної мікроскопії. Встановлено, що MI-1 та MI-2 проявляють досить виражену дозозалежну цитотоксичність, причому перший спричиняє більш виражений ефект – кількість живих клітин при концентрації сполуки 5 мкмоль достовірно знижується порівняно з контролем (84,02%) і різниця становить 7,72%, а при дії 30 мкмоль – 13,15%. За впливу MI-2 ці показники становлять 5,59% та 10,07% відповідно. При цьому зростала кількість некротичних клітин і незначно – апоптотичних. Проте додавання досліджуваних сполук у вказаних концентраціях перед початком аноксії-реоксигенації давало інший ефект. Так, концентрація MI-1 5 мкмоль спричиняла деяке підвищення кількості живих клітин на 3,71% порівняно з контролем, який становив 71,11%, але при найвищій концентрації сполуки спостерігали незначне зниження кількості живих клітин – на 2,11%. При дії MI-2 5 мкмоль відбувалося недостовірне зниження відсотку клітин (на 1,41%), проте кількість живих клітин при підвищенні дози речовини перевищувала контрольні показники (на 6,89%). Рівень некротичних клітин за впливу MI-1 дозозалежно зростав, але залишався в межах контрольного (19,4%), а за дії MI-2 – дозозалежно знижувався. Відсотки апоптотичних клітин були нижчими, ніж в контролі (10,5%) за умов дії як MI-1, так і MI-2.

Таким чином, результати свідчать про те, що MI-1 спричиняє більш негативну дію, аніж MI-2 на клітини неонатальних кардіоміоцитів за нормальних умов і є більш кардіотоксичним. Проте, MI-2 за умов аноксії-реоксигенації проявляє виражену протективну дію на клітини, зменшуючи відсоток некротичних та апоптотичних клітин.

Кітам В., Чащін Н.

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТЕОРЕТИЧНОЇ ПРОСТОРОВОЇ МОДЕЛІ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ВИЗНАЧЕНИХ СТРУКТУР СУР 2E1 ЛЮДИНИ

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України

Вул. Заболотного, 150, Київ, 03680, Україна

E-mail: v.o.kitam@gmail.com

Цитохром P450 2E1 (СУР 2E1), належить до монооксигеназної цитохром P450-залежної системи гемвісних ферментів та приймає участь в метаболізмі ксенобіотиків. Слід зазначити, однак, що при функціонуванні СУР 2E1 генеруються вільні радикали, надлишок яких приводить до інтенсифікації перекисного окиснення ліпідів, окисної модифікації білків і нуклеїнових кислот та до розвитку стану окисного стресу.

В ході даної роботи було проведено порівняння раніше побудованої та оптимізованої методом обчислення молекулярної динаміки тривимірної просторової моделі P450 2E1 людини та експериментально визначених структур СУР 2E1 людини (Porubsky, 2008).

Просторову структуру СУР 2E1 людини було експериментально визначено для комплексів з інгібіторами (4-метилпіразол та індазол). Загальний рівень якості просторових структур як теоретичної, так і експериментально отриманих є достатньо високим, проте теоретична модель характеризується меншим відсотком недозволених ротамерів та помилкових кутів зв'язків між амінокислотними залишками. Показано, що теоретична просторова модель характеризується меншим загальним об'ємом молекули та більшим об'ємом активного центру в порівнянні із експериментально-визначеними структурами. Різниця в об'ємах активного центру може пояснювати механізми інактивації ферментативної активності даного білку шляхом зменшення об'єму самого активного центру та його каналу. Таке звуження каналу робить неможливим входження субстрату до активного центру.

Отже розрахована нами модель представляє собою просторову структуру активного ферменту. Таким чином для подальшого дослідження механізмів зв'язування різноманітних лігандів із активним центром СУР 2E1 та передбачення можливих інгібіторів доцільно використовувати саме розраховану нами теоретичну модель.

Колесник О. 1, Чеботар С. 1, Хохлов О. 2, Сиволап Ю. 1

АНАЛІЗ ГЕТЕРОГЕННОСТІ СУЧАСНИХ УКРАЇНСЬКИХ СОРТІВ ОЗИМОЇ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ ЗА ДОПОМОГОЮ МІКРОСАТЕЛІТНИХ МАРКЕРІВ

¹Південний біотехнологічний центр в рослинництві УААН

²Селекційно-генетичний інститут — Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення

Овідіопільська дор., 3, Одеса, 65036, Україна

E-mail: emerald-olga@ukr.net

Аналіз особливостей сортів м'якої пшениці, що зареєстровані в Україні, а також диференціація й ідентифікація генотипів є актуальним в теоретичному і практичному плані завданням (Сиволап, 2000). З даних літератури відомо, що новий сорт сільськогосподарської культури як результат науково-дослідної розробки є інноваційним продуктом (Поплавська, 2005). В Україні щорічно створюються нові сорти і гібриди, які здатні конкурувати із зарубіжними і користуватися попитом (Ажаман, 2004). Для диференціації й ідентифікації таких сортів, а також для визначення їх одноманітності й стабільності, залучаються ДНК-технології, зокрема мікросателітний аналіз (Сиволап, 1998).

У дослідження залучені 19 сучасних сортів озимої м'якої пшениці, створених у Селекційно-генетичному інституті (Каталог, 2008), а саме: Кірія, Пошана, Дальницька, Ліона, Господиня, Скарбниця, Косовиця, Антонівка, Єдність, Подяка, Запорука, Благодарка одеська, Заможність, Місія одеська, Бунчук, Польовик, Куяльник, Оксана, Альбатрос. Дослідження проводили методом ампліфікації ДНК за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з праймерами, які специфічно фланкують мікросателітні локуси; електрофорезом ампліфікованих фрагментів ДНК в денатуруючому поліакриламідному гелі. ДНК виділяли з етіюльованих паростків, для кожного сорту було взято п'ять колосів, та з кожного колосу п'ять зерен. Праймери до мікросателітних локусів дібрані згідно методичних рекомендацій по ідентифікації і реєстрації генотипів м'якої пшениці та інших культур (Методичні рекомендації, 2004).

Необхідним етапом досліджень є вивчення генетичної однорідності сортів і виявлення рівня внутрішньосортової варіабельності. За даними аналізу п'яти локусів у дослідженій вибірці сортів виявлено вісім гетерогенних сортів. Так, у сорта Подяка детектовано сукупності рослин з генотипами, що характеризуються унікальною комбінацією алелів, для першої групи генотипів це алелі розміром 120 п.н. за локусом *Xgwm095-2A*, 125 п.н. за *Xgwm186-5A* та 208 п.н. за локусом *Xgwm190-5D*; для другої групи — алелі розмірами 122 п.н., 135 п.н. та 210 п.н., та для третьої — 110 п.н., 127 п.н. та 212 п.н., відповідно. Сорти Запорука, Скарбниця, Бунчук є гетерогенними за даними двох локусів. Але, у сорта Запорука виявлено також три групи генотипів, перша з яких має алелі 125 п.н. за локусом *Xgwm186-5A* та 204 п.н. за локусом *Xgwm190-5D*; друга група характеризується алелями з розмірами 115 п.н. та 208 п.н., а третя — алелями 115 п.н. та 204 п.н., відповідно. Сорт Бунчук характеризується наявністю трьох груп генотипів, при цьому перша має алелі 122 п.н. за локусом *Xgwm095-2A* та 143 п.н. за *Xgwm155-3A*; у другої групи виявлено алелі 122 п.н. та 139 п.н., а у третьої детектували алелі 124 п.н. за *Xgwm095-2A* та 139 п.н. за *Xgwm155-3A*. У сорта Скарбниця детектовано 2 групи генотипів, у першій з яких виявлено алелі 113 п.н. за локусом *Xgwm186-5A* та 149 п.н. за локусом *Xgwm155-3A*; а друга має за дослідженими локусами алелі 139 п.н. та 145 п.н. Гетерогенність сортів Ліона, Місія одеська, Господиня, Єдність визначено лише за одним з тестованих п'яти локусів. У кожного з даних сортів виявлено по дві групи генотипів. Так, у сорта Ліона детектовано генотипи з алелями 113 п.н. та 129 п.н. за локусом *Xgwm186-5A*; сорт Місія одеська має алелі розміром 139 п.н. та 143 п.н. за локусом *Xgwm155-3A*; у сорта Господиня виявлено алелі 193 п.н. та 195 п.н. за *Xgwm165/1-4D* та сорт Єдність має алелі розміром 120 п.н. та 122 п.н. за локусом *Xgwm095-2A*. За даними інших досліджених локусів у вказаних сортів не визначено внутрішньосортової варіабельності, тобто ці сорти є менш гетерогенними. Сорти Кірія, Пошана, Дальницька, Косовиця, Антонівка, Благодарка одеська.

Kurlishchuk Y.^{1,2}, Vunnytska B.², Bobak Y.², Stasyk O.²

**ANALYSIS OF THE IMPACT OF AMINO ACIDS DEPLETION ON HUMAN
CANCEROUS CELLS OF DIFFERENT ORIGIN**

¹ *Ivan Franko National University of Lviv, Hrushevskogo str., 4, Lviv, 79005, Ukraine*

² *Institute of cell biology, National Academy of Science of Ukraine,*

Drahomanov str., 14/16, Lviv, 79005, Ukraine

E-mail: KurlishchukYuliya@gmail.com

Most human tumor cells are highly dependent on exogenous amino acids, whereas normal tissues can rely on their precursors to meet their amino acids needs. It is generally accepted that cancerous cells have higher L-arginine requirements and are sometimes deficient in enzymes of L-arginine *de novo* synthesis in comparison with normal ones. Our previous work suggested that one of the characteristic features of the effect of L-arginine starvation on sensitive tumor cells was their dying via apoptosis. However, little is known about the impact of other amino acids starvation.

We investigated effect of L-methionine, L-leucine and L-lysine depletion in comparison with L-arginine starvation on several malignant human cell lines. Concerning our previous results, we selected three cell lines that differed in their sensitivity to L-arginine starvation. Thus we chose two arginine depletion-sensitive cell lines - human hepatocarcinoma (HepG2) and human metastatic melanoma (WM1158) and one resistant - lung adenocarcinoma (A549). Cell viability and exponential growth were routinely assayed by trypan blue dye exclusion method.

Cells were maintained in the complete medium or the same medium devoid of L-arginine, L-methionine, L-leucine or L-lysine for 24, 48 and 72 hours. It was shown that absence each of the four tested amino acids inhibited cell proliferation of all investigated cell lines. Analysis of cell survival revealed that L-leucine and L-lysine did not influence cell viability during whole experiment. By contrast, L-methionine starvation induced significant cell death already after 48 hours of incubation for all analyzed cell lines. L-arginine depletion caused intermediate effect.

In order to assess the effect of amino acids starvation on cell ability to recover proliferation after indicated periods of time the medium was supplemented with corresponding amino acids and cells were cultivated for additional three days. As could be expected A549 cells restored proliferation even after 72 hours of L-arginine starvation, while for HepG2 and WM1158 cells this ability decreased in time-dependent manner. L-methionine absence had the most prominent influence on all malignant cell lines. HepG2 and WM1158 cells did not restore their proliferation even after 24 hours of L-methionine starvation. In the case of A549 cells the time-dependent decrease of growth restoration pattern was observed. For L-leucine and L-lysine deprivation cell growth restoration occurred even after 72 hours of appropriate amino acids starvation for all cell lines tested.

Our data confirmed that L-arginine and L-methionine starvation could be a promising approach for modern anticancer therapy. Mechanisms of L-methionine starvation-based cytotoxicity are already well elucidated: L-methionine is indispensable for DNA methylation, thus L-methionine starvation severely affects gene expression and triggers mitochondria-dependent apoptotic process. By contrast, L-arginine is a rather versatile amino acid involved in plethora of metabolic and signaling pathways (biosynthesis of nitric oxide, agmatine, polyamines etc.). The mechanisms underlying L-arginine starvation-based cytotoxicity remain to be elucidated.

Максимчук О., Росохацька І., Чашин М.

**ЕКСПРЕСІЯ ГЕНА ЦИТОХРОМУ P450 2E1 У ПЕЧІНЦІ МИШЕЙ
ЗА ДІЇ СТРЕСОВИХ ЧИННИКІВ**

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України

Вул. Заболотного, 150, м. Київ, 03680, Україна

E-mail: prima@imbg.org.ua

Цитохром P450 здійснює оксигеназне окиснення речовин ендогенного та екзогенного походження. Одна з ізоформ цитохрому P450 – P450 2E1, окиснює основним чином низькомолекулярні екзогенні речовини, серед яких сполуки, що можуть входити до складу продук-

тів харчування, косметичних та лікарських засобів, розчинники, відходи промисловості та деякі інші сполуки. Цитохром P450 2E1 характеризується високою оксидазною активністю. Він здатен відновлювати молекулярний кисень навіть за відсутності субстрату та потенціювати утворення активних радикалів. Цитохром P450 2E1 – індукцйбельний фермент, рівень експресії якого залежить від статі та віку тварин і певним чином змінюється у разі дії зовнішніх фізичних, хімічних і біологічних чинників. Високий рівень конститутивної експресії показано в клітинах печінки статевозрілих самців мишей.

Показано, що як іонізуюче випромінювання так і хронічна дія етанолу спричинюють посилення пероксидних процесів та зрушення прооксидантно–антиоксидантної рівноваги (редокс-балансу) у клітинах. Це призводить до розвитку оксидативного стресу, який супроводжує кожний соматичний стрес в організмі. Відомо, що оксидативний гомеостаз підтримується завдяки збалансованому функціонуванню у клітині систем ферментів – антиоксидантів та прооксидантів (до останніх належить цитохром P450 2E1). Показано, що Cyp2e1 бере активну участь у розвитку стресового стану, протіканні пов'язаних із ним патологічних процесів, а також у формуванні адаптивної відповіді при алкогольному ураженні.

Робота присвячена дослідженню змін експресії гена цитохрому P450 2E1 в печінці мишей за хронічної дії низькоінтенсивного іонізуючого випромінювання та етанолу.

Дослідження проведено на самцях мишей лінії BALB/c віком 3-3,5 місяців із середньою масою тіла 30 г розведення віварію Інституту молекулярної біології та генетики НАН України. Мишей було розподілено на чотири групи. У першу групу входили тварини, які зазнавали постійного довготривалого протягом 35 діб впливу низькоінтенсивного із потужністю 0,7 сГр/добу γ -випромінювання (джерело ^{60}Co , установка “Еталон”). До другої групи належали тварини, які тривалий час (до 35 діб) вживали етанол із питною водою (w/v 10 %). Третю групу складали миші, які піддавалися впливу спільної довготривалої дії етанолу та γ -випромінювання. У четверту групу входили контрольні тварини, які не опромінювались та не вживали етанол.

Методами імуноблот-аналізу та Нозерн-блот гібридизації показано, що тривале низькоінтенсивне γ -випромінювання у малих дозах викликає зниження вмісту цитохрому P450 2E1 та рівня мРНК *Cyp2e1* у печінці мишей. Хронічна дія етанолу призводить до підвищення вмісту білка Cyp2e1 і не впливає на рівень відповідної мРНК. В разі спільної тривалої дії двох стресорів спостерігається початкове зростання вмісту ферменту, що є проявом стабілізуючої дії етанолу. Із збільшенням тривалості експозиції вміст білка Cyp2e1 зменшується, що пов'язано виключно із дією γ -випромінювання, яка призводить до зниження рівня мРНК *Cyp2e1* протягом всього експерименту. Інгибування експресії гена цитохрому P450 2E1 за дії γ -випромінювання можливо відбувається внаслідок загального пероксидного ураження, але й водночас може бути певною адаптивною відповіддю клітини при оксидативному стресі.

Морозова К.

ЗАСТОСУВАННЯ НОВОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ДАЛЕКО-ЧЕРВОНОГО БІЛКА RFP660 У КЛІТИННІЙ БІОЛОГІЇ

Харківський національний університет ім. В.Н.Каразіна

пл. Свободи, 4, Харків, 61077, Україна

Email: kmorozova@rambler.ru

В сучасній клітинній біології флуоресцентні білки застосовуються для вивчення експресії генів, локалізації та динаміки клітинних білків, мічення органел та окремих клітин. На їх основі розроблені біосенсори внутрішньоклітинних метаболітів та ферментативних активностей, детектування взаємодії між досліджуваними білками. Найбільший інтерес з практичної точки зору мають флуоресцентні білки далеко-червоної області спектру, тому що саме тут автофлуоресценція тваринних тканин є мінімальною.

За допомогою методів молекулярного клонування та мутагенезу на основі яркого червоного флуоресцентного білка mKate (максимуми збудження та флуоресценції на 588 нм та 635 нм, відповідно) (К.Мерзляк та ін., 2007) був створений новий далеко-червоний флуоресцентний білок RFP660. Пік збудження флуоресценції RFP660 становить 615 нм, пік флуоресценції – 660

нм, що перевищує відповідні показники для вихідного mKate на 25–27 нм. Взагалі, обидва спектральні максимуми на цей час є найбільш довгохвильовими з усіх відомих GFP-подібних білків дикого типу та їх мутантних форм. RFP660 характеризується коефіцієнтом поглинання $27000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ та квантовим виходом 0,09. Показано, що порівняно з mKate, RFP660 має кращу рН-стабільність з величиною втрати половини флуоресценції при рКа 5,5.

Був проведений ряд експериментів з візуалізації тваринних клітин та внутрішньоклітинних структур з RFP660. Для того щоб сконструювати плазмиди pRFP660-C1 та pmKate-C1, гени відповідних білків були ампліфіковані як нуклеотидні фрагменти *NheI*-*Bgl*II, що замінили EGFP ген у pEGFP-C1 векторі (Clontech). При створенні плазмід pRFP660-N1 та pmKate-N1 гени ампліфікували *AgeI*-*NotI* нуклеотидними фрагментами та вводили у вектор pEGFP-N1 (Clontech) замість EGFP. Такі плазмиди були успішно застосовані для візуалізації цитоплазматичної експресії у клітинах лінії HeLa.

Для того, щоб створити химерний білок RFP660-б-тубулін, ПЛР-ампліфікований *NheI*-*Bgl*II фрагмент, який кодує RFP660, був введений до вектора pTagGFP-б-тубулін (Євроген). Для химерного білка RFP660-в-актин ген TagGFP у векторі pTagGFP-в-актин (Євроген), замінили ПЛР-ампліфікованим фрагментом *AgeI*-*NotI*, що кодує RFP660. Ідентичні химерні конструкції були зроблені з білком mKate.

Плазмиди були трансфіковані у тваринні клітини лінії HeLa. Клітини досліджували під мікроскопом у живому стані на третю добу після початку експресії химерних білків. Показано, що RFP660 химери нормально вбудовувались до ендогенних цитоскелетних структур клітини. Неспецифічної локалізації та формування у клітинах агрегатів для зазначених конструкцій не виявлено. Якщо клітини були трансфіковані двома плазмидами з RFP660 та з mKate химерами одночасно, відповідні структури чітко детектувалися у червоному (HQ615/30) та далеко-червоному (640LP) фільтрах флуоресценції.

Суміш клітин мічених mKate або RFP660 з цитоплазматичною експресією сканували на цитофлуорометрі BD FACSAria з використанням лазерів: 561 нм та 635 нм для збудження і фільтрів 590/20 нм та 670/30 нм для детекції флуоресценції. Клітини з mKate чітко детектувалися у каналі 561 нм лазера, в той самий час, як клітини з RFP660 не відрізнялись від рівня шуму. У каналі 635 нм лазера детектувалась флуоресценція клітин з RFP660, а флуоресценція mKate була незначною.

Таким чином, білок RFP660 здатний розширити можливості візуалізації клітин та внутрішньоклітинних структур, додаючи новий далеко-червоний колір, який розрізняється при мікроскопічних та цитофлуорометричних дослідженнях.

Пасічник Г., Басараба О., Бобак Я., Маріна В., Коломійцев В., Коваленко А., Дробот Л.

**ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ МНОЖИННИХ МОЛЕКУЛЯРНИХ ФОРМ RUK/CIN85
У НОРМАЛЬНИХ І ПАТОЛОГІЧНИХ ТКАНИНАХ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ЛЮДИНИ**

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

бул. Володимирська, 64, 01033, Київ, Україна

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна Національної Академії Наук України

E-mail: anua_p@meta.ua

Однією з найгостріших проблем сучасності є зростання кількості онкологічних захворювань. На даний час існують різноманітні напрямки у лікуванні та дослідженні ракових захворювань. Особливо актуальним є молекулярний підхід, який базується на вивченні сигнальних шляхів клітини. Важливими компонентами сигнальних шляхів є адаптерні білки, до яких належить SH3-вмісний адаптерний білок Ruk/CIN85. Ruk/CIN85 має мультидоменну структуру і через зв'язування з низкою білків-партнерів формує мультимерні комплекси, залучені до таких клітинних відповідей, як апоптоз, проліферація, регуляція функціонального стану актинового цитоскелету, інвазія та ін.

Метою роботи було порівняти експресію множинних молекулярних форм адаптерного білка Ruk/CIN85 у зразках умовно-нормальної тканини та зразках багатовузлового зобу, фолікулярної аденоми і папілярної карциноми щитоподібної залози людини методом Вестерн-блот аналізу.

Для дослідження експресії множинних форм Ruk/CIN85 було отримано дві фракції білків: фракція Тритон Х-100-солюбілізованих білків (ТСБ, білки цитоплазми і каріоплазми) і фракція загальних тканинних білків (ЗТБ, білки цитоплазми, каріоплазми, цитоскелету і ядерного матриксу). У зразках умовно нормальної тканини щитоподібної залози та зразках патологічно змінених тканин виявлені такі множинні молекулярні форми p130, p85, p70, p56, p50, p40, p34, p17 і p14. Показано, що рівень експресії p130, p70, p56, p40, p34, p17 і p14 у зразках досліджених патологій ТСБ та ЗТБ фракцій, в основному, вищий, ніж рівень експресії аналогічних множинних форм у зразках умовно нормальної тканини.

Високий рівень експресії повнорозмірної форми Ruk/CIN85 виявлено у зразках умовно нормальної тканини щитоподібної залози, тоді як в зразках багатовузлового зобу і фолікулярної аденоми p85 детектується на нижчому рівні. Цікавим є те, що вміст повнорозмірної форми Ruk/CIN85 у зразках патологічно зміненої тканини значно вищий в ЗТБ фракції в порівнянні з ТСБ фракцією. На основі цього можна припустити, що при зазначених захворюваннях щитоподібної залози відбувається зміна субклітинної локалізації досліджуваного адаптерного білка. На відміну від зразків вузлового евтиреоїдного зобу і фолікулярної аденоми в зразках папілярної карциноми спостерігається зростання рівня експресії повнорозмірної форми Ruk/CIN85 у порівнянні зі зразками умовно нормальної тканини. Форма без першого SH3 домену з молекулярною масою 70 кДа виявляється лише в ЗТБ фракції. Це може свідчити про те, що ця форма жорстко асоційована з цитоскелетом.

Отримані експериментальні дані стосовно змін як в рівні експресії, так і субклітинної локалізації множинних молекулярних форм Ruk/CIN85 свідчать про потенційну роль досліджуваного адаптерного білка у патогенезі низки захворювань щитоподібної залози.

**Чень О., Барська М., Вовк О., Бобак Я., Винницька Б., Лінів Л., Шуваєва Г.,
Ігуменцева Н., Стасик О., Чайка Я.**

**ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ОКСИДУ АЗОТУ (NO) НА ПРОЦЕСИ АПОПТОЗУ ТА
АВТОФАГІЇ ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИННИХ КЛІТИН МЕЛАНОМИ WM1158 ЗА УМОВИ
ДЕФІЦИТУ СУБСТРАТУ NO-СИНТАЗ L-АРГІНІНУ**

Львівський національний університет імені Івана Франка

Вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

Інститут біології клітини НАН України

Вул. Драгоманова 14/16, м. Львів, 79005, Україна

E-mail: marina_barska@yahoo.com

Клітини меланоми людини постійно експресують індукцибельну синтазу оксиду азоту (iNOS) і саме ця їхня особливість корелює з несприятливим прогнозом перебігу захворювання. Дослідження механізмів модуляції таких біологічних властивостей злоякісних клітин, як апоптоз та автофагія, є особливо актуальним у встановленні нових мішеней протипухлинних препаратів для формування стратегії інгібування росту пухлин.

За даними RT-PCR та Western blot аналізу виявлено конститутивно високий рівень експресії ферменту iNOS у лізатах контрольних взірців клітин лінії WM1158 як на повному середовищі, так і на середовищі без L-аргініну, який є основним субстратом NO-синтазної реакції. В умовах 24-годинної інкубації клітин у присутності індукторів iNOS (10 µg/ml LPS + 10 ng IFN-γ) відбувається підсилення експресії гену ферменту на рівні mRNA та синтезу відповідного білка. Слід відзначити, що, за дії індукторів, ферментативна активність iNOS не зазнавала істотних змін у порівнянні з такою у контрольних зразках. В той же час спостерігалось повне пригнічення активності iNOS під впливом інгібіторів синтаз оксиду азоту (10 mM L-NAME та 10 mM AG) в умовах культивування клітин як на середовищі з аргініном, так і без нього. За даними Western blot аналізу із застосуванням моноклональних антитіл до нітротриозину виявлено підвищену ферментативну активність iNOS щодо утворення ендogenous NO на повному середовищі у порівнянні з дефіцитним за аргініном. У лізатах клітин лінії WM1158 нітрозильовані білки виявлялись у вигляді смуг різної інтенсивності в діапазоні 55-72 кДа та 120-130 кДа.

Досліджувались показники росту, апоптозу та автофагії злоякісних пухлинних клітин на 24 годину інкубації за умов впливу інгібіторів та активаторів синтаз оксиду азоту, а також при додаванні донора оксиду азоту SNP у концентраціях, співмірних із такими, що продукуються самими клітинами (0,01 мМ) при окисному метаболізмі L-аргініну і за умови використання SNP у підвищених кількостях (0,1 і 1 мМ). Показники росту клітин WM1158 достовірно не відрізнялись від відповідних контрольних значень під впливом інгібіторів NOS. Низькі концентрації екзогенного NO (0,01 мМ SNP) дещо стимулювали ріст клітин, тоді як більш високі (0,1 та 1 мМ) концентрації SNP достовірно його пригнічували на повному та безаргініновому середовищі. За результатами DNA-ladder аналізу апоптичних процесів на 24 годину інкубації у присутності активаторів, інгібіторів та донору оксиду азоту виявлено початкові стадії міжнуклеосомної деградації ДНК при культивуванні клітин WM1158 виключно на середовищі з дефіцитом аргініну. Встановлено достовірне зростання кількості клітин з морфологічними ознаками апоптозу за умови дії інгібітора синтаз оксиду азоту L-NAME та донору оксиду азоту 1 мМ SNP як на середовищі з аргініном, так і без нього. Підсилення процесу автофагії в клітинах WM1158 у тесті з монодансилкадаверином спостерігалось в умовах культивування на середовищі без аргініну.

Отже, низькі концентрації ендogenous (генерованого конститутивно функціонуючого iNOS) та екзогенного (у складі 0,01 мМ SNP) NO, сприяють росту клітин лінії WM1158 у більшому ступені на повному середовищі, ніж на середовищі без аргініну. Пригнічення окисного шляху метаболізму L-аргініну в умовах культивування WM1158 на середовищі з дефіцитом аргініну, призводить до достовірної активзації процесів апоптозу та автофагії.

Отримані результати можуть бути корисними для розробки комбінаційної терапії меланом на основі голодування за аргініном.

Kowalik K., Pryzowicz J., Gontarz T., Grela P., Grankowski N., Tchorzewski M.

FUNCTIONAL ANALYSIS OF THE ACIDIC RIBOSOMAL P1 PROTEINS FROM YEAST AND HUMAN CELLS

*Institute of Microbiology and Biotechnology, Maria Curie-Skłodowska University
Akademicka 19, 20-033 Lublin, Poland*

Eukaryotic ribosomes on their large subunit have a distinct lateral protuberance, called the stalk. This structure consists of highly conserved ribosomal proteins: P0, P1 and P2, which form together pentameric complex denoted as: P0-(P1-P2)₂. The structure is the major part of GTPase center, being a landing platform for translation factors and responsible for GTPase related events in the protein biosynthesis process.

In higher Eukaryotes, eg.: human cells, the P1/P2 stalk proteins group is composed of two forms of P-proteins, namely P1, P2; contrary to the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, where the group of P1 and P2 proteins is differentiated into four subgroups that form two separate P1A-P2B and P1B-P2A heterodimers. Presence of such hetero-complexes (P1-P2) was also revealed in mammalian cells. All the dimmers constitute the functional elements of the stalk, and are directly involved in ensuring the speed and accuracy of protein synthesis.

The most inscrutable and interesting point is that despite the apparent identical function on the ribosome, the P1/P2 protein group is not interchangeable between the Bacteria and Archaea/Eukaryotes, and moreover it seems to that P proteins confer a factor binding specificity on the ribosome. Additionally full interchangeability of P-proteins among eukaryotic species is also questionable as well.

Here we show the functional complementation of the conditionals P1A-null mutant of *Saccharomyces cerevisiae* with homologous hP1 gene from *Homo sapiens*. This analysis may cast more light on the problem of interchangeability of P-proteins among eukaryotic species, which is obscure and requires more clarification. Our yeast strain mutants with human hP1 protein show significant slower growth, comparing to wild type, but nearly unchanged utilization of alternative carbons sources. The yeast cells showed also higher sensitivity toward antibiotics acting on the protein synthesis machinery.

Pilipow K., Szuster-Ciesiekska A.

**BETULIN AS AN INHIBITOR OF LIVER STELLATE CELLS ACTIVATION
WITH ETHANOL, ACETALDEHYDE AND ACETAMINOPHEN.**

Maria Curie-Skłodowska University, Akademicka 19, 20-032, Lublin, Poland

Email: kpilipow@gmail.com

Background: Liver is a multifunctional organ where a glycogen and lipids metabolism take place. Hepatocytes are the main structural and functional cells, which are able to detoxify drugs and other toxins. In the liver Disse space, stellate cells (HSC) are located. In normal organ they are in a quiescent state and under influence of harmful factors they undergo an activation process where migration, adhesion, contractility and proliferation are excessive. In the effect of the cytoskeleton remodeling, their morphology changes into a myofibroblast-like phenotype (Moreira R., 2007).

Fibrosis depends on the interaction of many different cells: those which are responsible for fibrogenic activities as well as the inflammatory cells. Liver cells secrete a lot of cytokines, chemokines and other soluble factors. One of the most important is TGF- β which stimulates HSC proliferation by paracrine and autocrine loops (Bataller R., Brenner D., 2005). Activated stellate cells express abundant amount of extracellular matrix compounds, especially the collagen type I production is significantly increased; they also generate reactive oxygen species. HSC activation is the main key in a liver fibrosis process (Moreira R., 2007).

Acetaminophen (paracetamol, APAP) is one of the most popular over-the-counter analgesic and antipyretic drug. An increasing volume of literature suggests that it can be one of the factor which leads to fibrosis, because its metabolism as well as other drugs takes place in liver. In normal APAP decomposition, in 95% non active sulphurous and glucuronate are formed. Other 5% of this drug is metabolized by cytochrome P450 where a toxic metabolite: N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI) is produced (James L., Mayeux P., Hinson J., 2003). Also ethanol (EtOH) is metabolized by cytochrome P450 what cause an increased hepatotoxicity when APAP and ethanol are ingested simultaneously (Wu D., Cederbaum A., 2005). Ethanol is oxidized by alcohol dehydrogenase to acetaldehyde (AcCHO), a reactive intermediate, which next is transformed to acetate.

At the present any effective therapy for liver fibrosis recovery is not known. To find a successful treatment researchers investigate molecular mechanisms of a pathophysiological stellate cells state (Moreira R., 2007). The aim of this study was to determine whether betulin suppresses ethanol, acetaldehyde and acetaminophen activation of HSC. Betulin is one of the most frequent triterpenoids in plants, especially in white birch bark: *Betula verrucosa* or *Betula rubescens* (Achrem-Achremowicz A., Janeczko Z., 2002). The effect of betulin on migration, superoxide (O_2^-), hydrogen peroxide (H_2O_2) and TGF- β generation as well as collagen type I expression by hepatic stellate cells activated with ethanol, acetaldehyde and acetaminophen was investigated.

Results: Presence of betulin in HSC environment decreased expression of procollagen type I after ethanol, acetaldehyde and acetaminophen treatment in comparison to cells incubated without betulin. Also migration rate, reactive oxygen species and TGF- β production was significantly reduced in comparison to control.

Conclusion: Betulin decreases hepatic stellate cells activation after EtOH, AcCHO and APAP treatment. This effect may have potent antifibrogenic pharmacological applications. Potentially betulin can be used as an antifibrotic agent preventing liver fibrosis.

This research was supported by Grant NB-14-2008 from Vice-Rector for Research, UMCS.

Sienski G.1,2, Kowalik K.1,2, Bzowska M 1, Bereta J.1

WHEN MICRORNA MEETS 3'UTR.

A NEW VIEW ON THE REGULATION OF THE ADAM17 EXPRESSION.

¹*Department of Cell Biochemistry, Jagiellonian University, Gronostajowa 7 Street, Cracow, Poland*

²*Student Scientific Association Mygen, Jagiellonian University, Gronostajowa 7 Street, Cracow, Poland*

E-mail: grzegorz.sienski@uj.edu.pl, katarzyna.kowalik@uj.edu.pl

RNA interference phenomenon is a mechanism of selective regulation of gene expression at the posttranscriptional level triggered by the presence of specific double stranded RNA.

The set of microRNAs (miRNA) is involved in the process of endogenous RNA silencing in eukaryotic cells. miRNA are small, approximately 21 nucleotide-long RNA particles (products of non-protein coding genes), which interact with target sites located within the UTR regions of mRNA [W. Filipowicz, 2008]. Following certain base pairing rules of miRNAs and their targets it has been estimated that at least 30 percent of all human genes can be repressed in this way [K. Chen, 2007]. ADAM17, a member of a disintegrin and metalloproteinases family is an enzyme involved in shedding of ectodomains of a wide range of cytokines, growth factors and cytokine receptors. The level of ADAM17 expression was shown to be upregulated by cytokines and growth factors [M. Bzowska, 2004] and several data implicate the role of ADAM17 in tumor progression [S. Mochizuki, 2007]. On the other hand, the repression of some transcripts by miRNA may promote tumor growth as was suggested by numerous studies [T. Dalmay, 2008].

The aim of the work was to analyze the regulatory properties of 3'UTR of ADAM17 transcript. Using bioinformatic methods we identified a number of miRNAs, which may bind to 3'UTR of ADAM17 transcript. Some of them are known to play a role in cancerogenesis [R. Boggs, 2008]. We analyze their possible influence on the translational regulation of ADAM17 expression.

Sznajder J.

WHAT DO WE KNOW ABOUT THE ROLE OF SLITRK1 PROTEIN IN THE NEUROGENESIS AND THE ETIOLOGY OF NEURODEVELOPMENTAL DEFECTS?

Poznan University of Life Sciences, Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznac, Poland

E-mail: sznaidi@o2.pl

The Slitrk (slit and trk like protein) family (Aruga and Mikoshiba, 2003) contains six (Slitrk1-Slitrk6) structurally similar and conservative in the vertebrates, single-pass transmembrane proteins. There are two conserved extracellular leucine-rich repeat (eLRRs) domains flanked by cysteine clusters. The eLRRs are protein-ligand interaction motifs interacting with different cell types during neurodevelopment (Dolan et al., 2007). The Slitrk's domains have a significant homology to the domains of the Slit proteins. The Slits are secreted glycoproteins that interact with the Robo receptors as well as other proteins. They are involve in neurite development such as axon migration, axonal guidance and branching (Brose et al., 2000). Moreover, the intracellular region includes conserved tyrosine residues which are similar to the intracellular domains in the Trk neurotrophin receptors. The Trk's intracellular share contains a tyrosine kinase domain surrounded by several tyrosine residues (Louis et al., 2006). The intracellular region of Slitrk1 is the shortest in the family and does not contain tyrosine phosphorylation sites.

The Slitrk family plays an essential role in neurodevelopment. The expression of Slitrk1 begins from an embryo day in mice. The adults have the significant expression only in the nervous system especially in the brain. The expression profile is different and depend on the stage of neuronal maturation as well as the anatomical localization. The over-expression of Slitrk1 in cell culture reveals as the protein, which promotes neurite outgrowth.

Recent (Katayama et al., 2008) investigations explicate the role of Slitrk1 *in vivo* in *Slitrk1*-knockout mice. There were disturbances in the noradrenergic mechanism and cholinergic mechanism which were engaged in mice's anxiety-like behaviour and depression-like behaviour. These results shed light on changes in *SLITRK1* gene in potential carriers. The mutations were found in patients suffered from Gilles de la Tourette syndrome (GTS) (Abelson et al., 2005) and also trichotillomania (Zuchner et al., 2006). One in the patients with GTS has a rare variant in a 3' untranslated region (3'UTR) binding site for hsa-miR-189 (microRNA). It was not observed in the large group of control individuals.

The microRNAs (miRNAs) are the group of non-coding sequences. They post-transcriptionally regulate a gene expression by inhibiting translation or transcripts degeneration. The miRNAs are highly expressed in the vertebrata neural tissue, and what is more, the significant subset of them is abundant in the brain. Many miRNAs are involved in neurodevelopment. In fact, disturbances in miRNAs are associated with etiology of neural diseases like schizophrenia, mental retardation or GTS (Mehler et al., 2006; Williams et al., 2008).

АВТОРСЬКИЙ ПОКАЗЧИК / INDEX

- | | |
|--|--------------------------|
| Aisenberg V., 216 | Gudz S., 220 |
| Antonyuk M., 216 | Gumienny R., 221 |
| Augustyn A., 85 | Hejdysz M., 226 |
| Barska M., 83 | Nowakowska A., 226 |
| Bartnik M., 85 | Hnatush A., 83 |
| Bereta J., 239 | Hnatush S., 221, 224 |
| Bobak Y., 234 | Holik A., 154 |
| Bonarek P., 82, 86 | Horbay R., 16 |
| Borisenko A., 216 | Jankowska U., 89 |
| Brodiak I., 83, 92 | Józkowicz A., 154, 156 |
| Bzowska M., 239 | Kapichon A., 216 |
| Cantiello H. F., 15 | Kedracka-Krok S., 84, 89 |
| Chashchyn M., 15 | Kityk R., 84 |
| Chernenkov A., 152 | Klemantovich A., 218 |
| Cieslak A., 222, 225, 226 | Klyuchyvska O., 16 |
| Clarke A., 154 | Kołodziejski J., 154 |
| Семіонова К., 73 | Korolev V., 152 |
| Сибірний А., 124 | Korzeniowski B., 17 |
| Dominik P., 154 | Kos K., 85 |
| Drobot L., 82 | Kotlinowski J., 154, 156 |
| Dubiel M., 154 | Kovaltsova S., 152 |
| Dulak J., 154, 155, 156 | Kowalik K., 238, 239 |
| Dullin P., 222 | Kozakowska M., 156 |
| Dyakiv V., 81 | Koc Я., 124 |
| Dziedzicka-Wasylewska M., 82, 84, 86, 89 | Kruczek K., 155 |
| Falfushynska H., 81, 88 | Kudzina I., 219 |
| Fedorova I., 152 | Kurlishchuk Y., 234 |
| Fedoseienko A., 82 | Kushkevych I., 221, 224 |
| Ferens I., 92 | Kuske J., 85 |
| Fic E., 84 | Lagonenko A., 219 |
| Filyak O., 87 | Lavryk S., 219 |
| Filyak Y., 87 | Lemke K., 154 |
| Gaidar S., 15 | Lesiecki M., 226 |
| Galbas M., 222 | Levytska O., 220 |
| Galkin O., 217, 218 | Lipinska A., 221 |
| Gładysz E., 90 | Majka M., 154 |
| Gnatishina L., 81, 88 | Malanyuk O., 88 |
| Gnatush S., 219 | Marczewski B., 226 |
| Goch I., 81 | Markiewicz M., 82 |
| Gontarz T., 238 | Michalowski T., 225, 226 |
| Górecki A., 82, 86 | Misztal T., 85 |
| Górka A., 82 | Moibenko O., 18 |
| Grankowski N., 238 | Mutenko H., 221 |
| Grela P., 238 | Myamin V., 218 |
| Grzybowski A., 153 | Nowak B., 226 |
| Grzywnowicz K., 85, 87 | Nowakowska A., 222, 225 |

- Olech M., 86
 Oleszczuk S., 85
 Pajak P., 85
 Pastor P., 87
 Pavlyk J., 87
 Peshekhonov V., 152
 Pesnyakevich A., 218
 Pilipow K., 239
 Pirog T., 156, 224
 Polit A., 86
 Porzucek F., 225
 Potkacski A., 222
 Zmora P., 222
 Priydun H., 88
 Pryzowicz J., 238
 Sabadashka M., 92
 Samoylenko A., 82
 Sanagurskiy D., 16
 Sanina A., 223
 Shevchuk T., 224
 Shorning B., 154
 Shuba Y., 18
 Siemiączko J., 17
 Sienski G., 239
 Skrypa I., 16
 Skvarko K., 16
 Stasyk O., 234
 Stefaniuk D., 85
 Stefacska A., 156
 Stoika R., 87
 Stoiko V., 216
 Surkont J., 17, 153
 Sybirna N., 83, 92
 Sznajder J., 240
 Szulc K., 89
 Szumacher-Strabel M., 222, 225, 226
 Szuster-Ciesiekska A., 239
 Tarasenko D., 224
 Tchorzewski M., 238
 Terletskaya Y., 89, 90
 Tomasik J., 84
 Vagelska T., 88
 Vasyliv O., 224
 Vitkovskaya M., 90
 Voitychuk O., 18
 Voloshyna I., 156
 Vovk O., 92
 Vunnytska B., 234
 Vynnytska B., 82
 Walkowiak A., 226
 Waś H., 154
 Wołk M., 85, 87
 Wergzyn A., 156
 Zdioruk M., 83, 92
 Zebzda A., 154
 Zmora P., 225, 226
 Абдуліна Д., 157
 Авер'янов Г., 171
 Аверіна А., 19
 Александрова Д., 73
 Александрова О., 227
 Антіпов І., 117
 Аравіцька О., 93, 106
 Атамчук О., 158
 Бабенко Л., 159
 Бабенко О., 103
 Бабійчук Т., 19
 Бадзюх О., 20
 Байляк М., 62, 173, 196
 Балюта Т., 21
 Баранов Ю., 94
 Барбул О., 94
 Барладин А., 58
 Барська М., 237
 Барчук Т., 196
 Бас М., 160
 Басараба О., 229, 236
 Безкоровайний А. О., 5
 Безродна А., 95
 Бервен О., 22
 Беляєва Т., 171, 177
 Било О., 102
 Білашко Ю., 22
 Білий О., 15
 Білінська І., 161, 172, 211
 Бобак Я., 236, 237
 Бобрешова Н., 171, 177
 Богатирьова О., 227
 Богдан Ю., 160
 Боднар І., 96
 Боднар Л., 96
 Божков А., 23
 Бокотей І., 24
 Болдирев О., 10
 Боровікова Є., 25
 Борсукевич Б. М., 162, 184, 189, 194

- Бродяк І., 75
 Бубнова А., 215
 Будзан І., 134
 Бура М. В., 5, 6, 12, 13, 15
 Бурак Н., 62
 Бурцева Г., 97
 Буслик Т., 68
 Буценко Л., 160, 170
 Бучковська І., 25
 Васильків О., 26
 Венгер А., 213
 Вербенюк О., 214
 Верем'єва М., 228
 Верес Є., 58
 Верхотурова І. С., 215
 Винницька Б., 75, 229, 237
 Винокурова К., 97
 Вичерова В., 27
 Вичерова Ю., 28
 Вишневіська А., 35
 Вінніков А., 159, 190
 Вовк О., 237
 Вовк С., 58
 Волкова І., 179
 Волкова Н., 98
 Волошина І., 188
 Волошук О., 29, 30
 Воробець Н., 172
 Воробйова Т., 11
 Воронкова О., 159, 190
 Ворошилова Н., 20, 31
 Гавілей Н., 99
 Гайда Г., 100
 Гайда Л., 22
 Галайко С., 172
 Галан М., 8
 Галенова Т., 31
 Галкін О., 168
 Галушка А., 174, 197, 203
 Гаркуша І., 31
 Гармашева І., 168
 Гаценко М., 169
 Генєга А., 6, 12
 Геращенко А., 227
 Геращенко Д., 229
 Глодан С., 173
 Гнатуш С., 163, 194, 202
 Гнатюк Т., 170
 Голембієвська С., 158
 Головчак Н., 7
 Головчак Х., 174
 Гомза Б., 32
 Гончар М., 101
 Гордієнко Ю., 33
 Горішний М., 186
 Горобець О., 6
 Горобець С., 102
 Горшкова О., 171, 177, 181, 190
 Грень Т., 103
 Грєхова А., 103
 Григор'єв Д., 104
 Грицишин А., 172
 Гром К., 105
 Громико О., 93, 106
 Грубський Я., 93, 106
 Грунтковська О., 33
 Грюк І., 78
 Гудзенко Т., 171, 181, 190
 Гудзь С., 162, 164, 174, 186, 197, 203
 Гулянич М., 107
 Гурін М., 144
 Гусь О., 212
 Давидко Н., 161
 Данилюк О., 33, 39
 Данкевич Л., 207
 Дворщенко К., 22
 Дем'яненко І., 102
 Демідов С., 145
 Демченко Н., 192, 210
 Дениско Т., 108
 Деркач Є., 22, 70
 Деркач М., 162
 Джус П., 109
 Дзюбчик М., 34
 Дзьома Ю., 110
 Дідух Ю., 35
 Дольова Л., 175
 Досенко В., 231
 Драгулян М., 111
 Дробот Л., 229, 236
 Друзенко О., 103
 Друль М., 163
 Дударенко М., 35
 Дуденко Ю., 74
 Дудич Н., 163
 Дузенко О., 48

- Дуфанець О., 164
 Ель-Та'Алу А., 36
 Євсюкова К., 112
 Єрмішев О., 37
 Єрохін В., 112, 197
 Єршов С., 73
 Жукова Д., 175
 Жукова Т., 36
 Жулай В., 19, 53, 64
 Загричук О. М., 113
 Заліпукхін О., 38
 Захарова О., 114
 Звездін Г., 114
 Звір Г., 164, 172, 183, 191, 202
 Зинь А., 7
 Зубов П., 229
 Зубова О., 229
 Іванушкіна Г., 176
 Ігнатенко С., 115
 Ігнатова С., 123
 Ігуменцева Н., 237
 Казмірчук І., 116
 Калакура М., 207
 Калачнюк Г., 58, 71
 Калачнюк Л., 58, 71
 Калінін І., 57
 Калініченко Є., 171, 177, 181, 190
 Каменська А., 230
 Кангіна Т., 39
 Карпенко О., 112, 197
 Карпуленко О., 117
 Катан Н., 40
 Кашуба В., 227
 Кашуба Я., 178, 198
 Кеца О., 41
 Кирик М., 182
 Кириченко В., 231
 Кисельов Д., 117
 Кітам В., 232
 Клевета Г., 34, 76
 Клепач Г., 100, 118
 Клим І. Р., 172, 184, 189, 194
 Клименко Ю., 42
 Климишин Д., 103, 135
 Кліжевська Х., 119
 Кліх Л., 27, 28, 38
 Кляченко О., 127, 148
 Книш О., 120
 Кобильник С., 48
 Коваленко А., 236
 Ковалишин А., 182
 Коваль Г., 193
 Коваль Н., 183
 Ковальова В., 78
 Когут О. С., 184
 Кожар О., 121
 Кожухова Н., 94
 Колесник О., 233
 Колісник Я., 206
 Коломієць Ю., 121
 Коломійцев В., 236
 Комок М., 179
 Кондратюк А., 43
 Кондратюк Г., 122
 Коновал О., 139
 Коновалова А., 123
 Конопельнюк В., 31
 Копильчук Г., 25, 30
 Коренєва А., 180
 Корзюков Є., 181, 190
 Корнелюк О., 230
 Корнієнко В., 8
 Корня Т., 123
 Корольова Д., 43
 Коротаєва Н., 213
 Костенко В., 125
 Костенко С., 101, 105, 109, 111, 128, 139, 143
 Костюк К., 44
 Кот Л., 31
 Кот Ю., 36
 Коцюмбас Г., 7
 Кочубей Т., 126
 Кравець Н., 126
 Кравець О., 45
 Кравченко С., 129
 Грищенко Н., 129
 Кривицька Т., 171, 177
 Крижко А., 185
 Криловська С., 127
 Крупко О., 46
 Кубайчук К., 47
 Кузнецова С., 129
 Кузнецова Л., 185
 Кузюк Л., 173
 Кулібаба О., 48

- Кулініч А., 48
Курас Л., 49
Курята О., 128
Кучеренко А., 129
Кучма М., 130
Кушкевич І., 163, 202
Лагно О., 186
Лапа О., 50
Линів Л., 237
Лисова Н., 187
Литвин Г., 8
Литвин М., 186
Лихолат Т., 50
Лівшиць Л., 129
Лівшиць Л., 152
Ліманська Н., 212
Ліновицька В., 133
Лобурець Ю., 51
Логаза Л., 52
Лопатнюк М., 106
Лубенець В., 6, 12
Луцкевич К., 53
Лянна О., 54
Магура І., 14
Мазур Ю., 55
Майорова О., 131
Макітринський Р., 132
Максимчук О., 234
Малюк О., 133
Мандзинець С. М., 5, 6, 12, 15
Мандзяк В., 118
Манжула Н., 188
Маріна В., 236
Марінцова Н., 6, 12
Марченко М., 40, 41
Маслак Г., 48
Масюк О., 189
Мацелюх Б., 158
Машевська О., 55
Машейко І., 56
Мелікян С., 75
Мельникова Н., 21, 35, 37, 38, 45, 50
Мельничук Д., 71
Мельничук М., 137
Мерцало Г., 191
Мех. І., 57
Миколаїв О., 93
Мироновський М., 134
Михайленко Н., 102
Михайлова Г., 171, 177, 181, 190
Гудзенко Т., 177
Мік-Сабат М., 58
Мінченко Д., 47
Мокрозуб В., 190
Моравська О., 58
Моргаєнко О., 78
Моргулець Л., 59
Мороз Л., 192
Мороз О. М., 162, 164, 172, 184, 189, 191, 194
Морозова К., 235
Мосула М., 134
Моцний І., 151
Муращенко Л., 135
Навитка С., 60
Нагібін В., 231
Назаренко М., 136
Назаркевич Л., 193
Напненко О., 117
Негруцький Б., 228
Нечитайло Л., 72
Ніколаєнко Т., 33
Нікуліна В., 8
Німілович М., 100
Новак Н., 137
Новак Т., 122
Новицька О., 214
Новіков В., 166
Носаль О., 14
Облап Р., 137
Одинець К., 230
Окань А., 9
Осадча Ю., 138
Остапів Д., 6
Остапченко Л., 31, 78
Остапчук А., 158, 168
Осташ Б., 132, 134, 150
Остролуцька К., 61
Отуріна І., 187
Охріменко Л., 62
Павликівський І., 62
Павлова Г., 195
Падурару О., 10
Паливода К., 63
Панасюк Є., 139
Парамонова К., 64

- Парасюк О., 194
Парнікоза І., 130
Пасайлюк М., 40
Пасічник Г., 140, 236
Пасічник Л., 160
Пасюга В., 11
Пенчук Ю., 147
Перегінська Б., 196
Переймибіда Л., 197
Перетятко Т., 65, 160, 189, 193
Пирог Т., 42, 115, 176, 188
Платонова Т., 43
Плех Н., 66
Побережник О., 141
Покинсьброда Т., 197
Поліщук В., 211
Полтавська Г., 99
Полянїнова О., 192
Пономаренко О., 36, 67
Попадинець Г., 33
Пороннік О., 130
Постоєнко В., 117
Потебня Г. П., 208
Потьомкін М., 6
Похила А., 68
Пристай М., 197
Притула І., 198
Пуріш Л., 157
Рахметов А., 31
Рачков О., 150
Ребець Ю., 124
Риндич А., 227
Рішко В., 142
Ровенко Б., 79
Роїк А., 69
Романова К., 178, 198
Росохацька І., 234
Руденко Я., 35
Руднева Т., 200
Рудь Ю., 199
Русин І., 166
Саббагі А., 201
Савицька О., 24
Савіч В., 202
Савка Ю., 203
Сай Ю., 202
Самойленко А., 63, 229
Санагурський Д. І., 5, 6, 7, 12
Сатарова Т., 120
Саулко Л., 70, 143
Сахацький М., 123
Семененко І., 144
Семків М., 144
Семчишин Г., 19, 32, 33, 39, 59
Серга С., 145
Сибірна Н., 65, 68, 75, 76
Сиволап Ю., 233
Сидір-Басараб І., 71
Симчич Т. В., 208
Сиротинська І., 72
Скляров О., 78
Скобало М. В., 205
Скоробогатов О., 146
Скоропуд О., 171, 177
Скочиляс Н., 206
Скрипка І., 207
Соколовський О., 147
Соловійов О., 129, 152
Сосновська О., 211
Стародуб М., 110
Стасик О., 75, 237
Сташевська Л., 147
Стекленьова Н., 56
Стрижак В., 32
Ступак І., 148
Сухомлінова О., 11
Таранухо М.П., 209
Таранухо Ю. М., 209
Тарасенко А., 46
Тарновська А., 7
Татарський П., 129
Тесарівська У., 8
Тетерук В., 73
Тимків А., 12
Тимошук У., 149
Тимчак М., 13
Тіхенко Н., 181, 190
Ткаченко Т., 25, 51
Третяк З., 210
Тряпїцина Н., 211
Тумановська Л., 231
Тупицька О., 61, 62, 66
Турко І., 211
Убийвовк В., 144
Удовиченко В., 211
Удовиченко К., 211

- Узун Я., 212, 213
 Ус Ю., 165
 Устянська О., 74
 Файдюк Ю., 165
 Фальченко К., 36
 Фатихова Н., 164
 Федоренко В., 93, 103, 106, 132, 134, 135, 150
 Федорович Д., 176
 Федосова Н. І., 208
 Ференсович Я., 15
 Фігурка О., 166
 Фігурка У., 166
 Філіпоненко Н., 98
 Фінюк Н., 75
 Фрич Н., 167
 Хмель Ю., 106
 Осташ Б., 106
 Холодова Ю., 150
 Хопта Н., 52
 Хохла М., 76
 Хохлов О., 151, 233
 Ципік О., 150
 Чайка Я., 76, 237
 Чашин М., 234
 Чашін Н., 232
 Чеботар Г., 151
 Чеботар С., 151, 233
 Чень О., 237
 Черник Я., 141, 142
 Чернищенко В., 77
 Чернушин С., 152
 Чмельова С., 80, 147
 Чорна В., 54
 Чупа М., 65
 Шаль І., 140
 Шамро Н., 78
 Шаргало М., 143
 Шаргородська К., 204
 Шевцова А., 33
 Шевченко Т., 200
 Шевчук Т., 42
 Шепельова І., 67, 69, 73
 Шеремета М., 172
 Шишка Р., 173
 Шоляк К., 204
 Шуай Є., 213
 Шуба Я., 10, 14
 Шуваєва Г., 237
 Шулякова С., 171, 177
 Шульженко Д., 129
 Щегловітов О., 14
 Юзефович Ю., 35, 78
 Юмина Ю., 215
 Юркевич А., 176
 Юркевич І., 79
 Юшина О., 15
 Яворська Г. В., 198, 205
 Якімова О., 80
 Ямборко Г., 164
 Ямборко Н., 175, 178, 198
 Янчукова А., 48
 Яремкевич О., 6, 12
 Яцишин В., 204

Наукове видання

Молодь і поступ біології

Збірник тез

V Міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів
12-15 травня 2009 року, м. Львів

Редакційна колегія

Гнатуш С., Прокопів А., Перетятко Т., Галушка А., Тарновська А., Головчак Н., Білик Б., Перетятко Ю., Генега А., Кравенська Є., Карпин О., Рабик М., Рішко В., Коровецька Г., Макітринський Р., Мерлавський В., Мироновський М., Нецик О., Дика О., Кушинська М., Юшина О., Яворницька І., Лаврик С., Левицька О., Гнатина О., Качмар Б., Гарайда О.

Редактор Сідлович Л.І.

Комп'ютерна верстка Демчук В.Л.

Відповідальний за випуск Перетятко Т.Б.

Scientific publication

Youth and Progress of Biology

abstracts book

of the V international scientific conference for students and PhD students
May 12-15, 2009, Lviv

Editorial board

Hnatush S., Prokopiv A., Peretyatko T., Halushka A., Tarnovska A., Holovchak N., Bilyk B., Peretyatko Y., Heneha A., Kravenska J., Karpyn O., Rabyk M., Rishko V., Korovetska G., Makitrynsky R., Merlavsky V., Myronovsky M., Netsyk O., Dyka O., Kushynska M., Yushyna O., Yavornytska I., Lavryk S., Levytska O., Gnatyna O., Kachmar B., Garayda O.

Editor Sidlovych L.I.

Page proof Demchuk V.L.

Responsible for publication Peretyatko T.B.

Підписано до друку . . . 2009. Формат 70х100/16. Папір офсетний. Друк офсетний.
Умовн. друк. арк. 27,3. Обл.-вид. арк. 22,9. Тираж 600 прим. зам.

Видавничий центр Львівського національного університету імені Івана Франка.
79000 Львів, вул. Дорошенка, 41

Publishing center of Ivan Franko National University of Lviv.
79000 Lviv, 41, Doroshenko str.