МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЖИТОМИРСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА
ІНСТИТУТ ЗООЛОГІЇ НАН УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ГІДРОБІОЛОГІЇ НАН УКРАЇНИ
ГІДРОЕКОЛОГІЧНЕ ТОВАРИСТВО УКРАЇНИ
УКРАЇНСЬКЕ НАУКОВЕ ТОВАРИСТВО ПАРАЗИТОЛОГІВ
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ВОЛОДИМИРА ГНАТЮКА
ТОВАРИСТВО МІКРОБІОЛОГІВ УКРАЇНИ
ІМ. С.М. ВИНОГРАДСЬКОГО

БІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ – 2020

ЗБІРНИК НАУКОВИХ ПРАЦЬ

Житомир – 2020

УДК 577
Б 63

Рекомендовано до друку вченою радою
Житомирського державного університету імені Івана Франка
(протокол № 4 від 30 квітня 2020 року)

Рецензенти:
Наталія Сергіївна Бордюг – доктор пед. наук, доцент, директор комунального закладу позашкільної освіти "Обласний еколого-натуралістичний центр" Житомирської обласної ради.
Світлана Вікторівна Гордійчук – кандидат біологічних наук, доцент кафедри природничих та соціально-гуманітарних дисциплін, проректор з навчальної роботи Житомирського медичного інституту.
Олександр Леонідович Кратюк – кандидат біологічних наук, доцент,завідувач кафедри експлуатації лісових ресурсів Поліського національного університету

Біологічні дослідження – 2020: Збірник наукових праць. – Житомир: 2020. – 493 с.

У збірнику подаються нові результати теоретичних, прикладних та науково-методичних досліджень провідних учених із широкого спектру біологічних проблем. Видання розраховане на студентів, аспірантів, вчителів, викладачів та науковців.

Редакційна колегія:
Киричук Галина Євгеніївна – ректор ЖДУ імені Івана Франка, д. б. н., проф. (голова);
Акімов Ігор Андрійович – директор Інституту зоології імені І.І.Шмальгаузена НАНУ; чл.-кор. НАНУ, д.б.н.(співголова);
Афанасьєв Сергій Олександрович – директор Інституту гідробіології НАНУ, д.б.н., проф., (співголова);
Боцян Тетяна Вікторівна – проректор з наукової і міжнародної роботи ЖДУ імені Івана Франка, к.е.н., доц.;
Романенко Віктор Дмитрович – академік НАНУ, д.б.н. Інститут гідробіології НАНУ;
Юришинець Володимир Іванович – заступник директора Інституту гідробіології НАНУ з наукової роботи, д.б.н.;
Корнійчук Наталія Миколаївна – проректор з навчальної роботи ЖДУ імені Івана Франка, к.б.н., доц;
Грубінко Василь Васильович – зав. кафедри загальної біології та методики навчання природничих дисциплін Тернопільського національного університету імені Володимира Гнатюка, д.б.н., проф.;
Межжерін Сергій Віталійович – зав. відділом еволюційно-генетичних основ систематики Інституту зоології імені І.І. Шмальгаузена НАНУ, д.б.н., проф.;
Романенко Олександр Вікторович – зав. кафедри біології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, академік НАНУ, д.б.н., проф.;
Корнюшин Вадим Васильович – гол. н.с. відділу паразитології Інституту зоології імені І.І. Шмальгаузена НАНУ, д.б.н., проф.;
Гарбар Олександр Васильович – зав. кафедри екології та географії ЖДУ імені Івана Франка, д.б.н. проф.;
Крот Юрій Григорович – пр.н.с. відділу екологічної фізіології водяних тварин Інституту гідробіології НАН України, к.б.н.;
Стадниченко Агнеса Полікарпівна – зав. кафедри зоології, біологічного моніторингу та охорони природи ЖДУ імені Івана Франка, д.б.н., проф.;
Шелюк Юлія Святославівна – завідувач кафедри ботаніки, біоресурсів та збереження біорізноманіття ЖДУ імені Івана Франка, к.б.н., доц.;
Мельниченко Руслана Костянтинівна – декан природничого факультету ЖДУ імені Івана Франка, к.б.н., доц.;
Коцюба Ірина Юріївна – старший викладач кафедри екології та географії ЖДУ імені Івана Франка, к.б.н..;
Гарбар Діана Анатоліївна – доцент кафедри зоології, біологічного моніторингу та охорони природи ЖДУ імені Івана Франка, к.б.н., доц.

Матеріали друкуються в авторській редакції. За достовірність фактів, власних імен та інші відомості відповідають автори публікацій. Думка редакції може не збігатися з думкою авторів

©ЖДУ імені Івана Франка, 2020

5. He Y.Q., Ma Z.Y., Yang Q., Du B.Z., Jing Z.X., Yao B.H., Hamann M.T., Diterpenoid alkaloids and flavonoids from Delphinium albocoeruleum // Maxim. Biochem. Syst. Ecol. – 2010. – V. 38. – P. 554–556.

6. Петріна Р.О., Загородня Д.С., Шаповалов І.Ю., Федорова О.В., Новіков В.П. Одержання калусної біомаси Delphinium elatum // Planta+. Досягнення та перспективи, Київ, 20–21.02.2020. – С. 65–67.

7. Singleton V.L., Rossi J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents // Journal of the American Enol. Viticult. – 1965. – V. 16. – P. 144–158.

8. Ordon Ez A.A.L., Gomez J.D., Attuone M.A., Isla M.I., Antioxidant activities of Sechium edule (Jacq.) Swart extracts // Food Chemistry. – 2006. – V. 97. – P. 452–458.

УДК: 576.314:576.524:57.043

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ПОВЕРХНОСТНОГО МАРКЕРА CD 44 И МЕХАНИЧЕСКОЙ СТАБИЛЬНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ В ПРИСУТСТВИИ САХАРОЗЫ И ПОЛИЭТИОЕНГЛИКОЛЯ

Н.Г. Землянских[1], Л.А. Бабийчук[2]

[1,2] Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, г. Харьков, 61016, Украина

В настоящее время для хранения эритроцитов человека при низких температурах (−80 и −196 ^{o}C) применяется эндоцеллюлярный криопротектор глицерин. Он гарантирует высокую сохранность клеток в процессе криоконсервирования, но должен быть удален из клеточной суспензии после размораживания для предотвращения осмотического шока при переносе эритроцитов в физиологические условия [1]. Это требует существенных материальных затрат. Поэтому исследования различных экзоцеллюлярных криопротекторов, которые позволяют применять криоконсервированные клетки без удаления данных соединений, представляют значительный интерес для практики криоконсервирования крови. Сахароза и полиэтиленгликоль с молекулярной массой 1500 (ПЭГ-1500) относятся к числу экзоцеллюлярных криопротекторов, пригодных для замораживания эритроцитов.

Важным аспектом действия криопротекторов являются структурные и функциональные изменения субклеточных компонентов, от которых зависит стабильность клеток как в процессе криоконсервирования, так и при их возвращении в физиологические условия. Учитывая, что изменения экспрессии поверхностных маркеров связаны с процессами старения клеток *in vivo* и *in vitro* [2,3], исследования изменений поверхностных маркерных структур мембран эритроцитов, вызванных действием криопротекторов экзоцеллюлярного типа могут способствовать лучшему пониманию

механизмов, ответственных за стабилизацию или повреждения клеток в экстремальных условиях.

Кроме того, учитывая, что существенную роль в повреждении клеточных структур при криоконсервировании может играть механический стресс, вызванный формированием внеклеточных кристаллов льда или взаимодействием клеток между собой и стенками контейнера [4], важно оценить изменения механической устойчивости эритроцитов при введении криопротекторов в состав клеточных суспензий. Модификации физических свойств мембраны в данных условиях могут иметь существенные последствия и для функционирования эритроцитов в физиологических условиях, поскольку при прохождении через капилляры, размеры которых меньше размеров самих эритроцитов, мембраны подвергаются механическому стрессу.

Цель данной работы состояла в изучении параметров распределения поверхностного маркера CD44 в эритроцитах, экспонированных в присутствии сахарозы и ПЭГ-1500, а также оценки влияния данных криопротекторов на развитие гемолитических повреждений эритроцитов при механическом стрессе.

Материалы и методы. Объектом исследования служили эритроциты крови доноров, заготовленной с использованием глюкозо-цитратного раствора в центре крови г. Харькова. Изменения поверхностного маркера CD44 в эритроцитах оценивали методом проточной цитометрии на приборе FACS Calibur (Becton Dickenson, США) с помощью одноименных CD44-антител, конъюгированных с флуоресцентным красителем FITC (метка CD44-FITC). В каждом измерении просчитывали 30000 клеток. Данные анализировали с помощью программы WinMDI 2.8. Устойчивость эритроцитов к механическому стрессу оценивали по уровню гемолиза под влиянием перемещающихся в суспензии мелких шариков. Гемолиз определяли методом спектрофотометрии (СФ-4А, ЛОМО, Россия) с проточной кюветой при λ=543 нм по количеству вышедшего из клеток гемоглобина. Количество гемоглобина выражали в процентах по отношению к 100 % гемолизу эритроцитов в присутствии 0,1% детергента тритона Х-100. Статистическая обработка данных выполнена с использованием программного пакета Statgraphics plus 2.1 for Windows.

Результаты. Изменения экспрессии CD44 были охарактеризованы с помощью гистограмм распределения клеток, связавших метку CD44-FITC. При этом было оценено два показателя: (1) количество $CD44^+$-клеток, несущих на мембране данный маркер, и (2) уровень экспрессии поверхностного маркера CD44. Второй показатель характеризовали медианой гистограмм распределения клеток, представляющей собой величину интенсивности флуоресценции, относительно которой клетки на гистограмме делились на две равные по численности части.

При инкубировании эритроцитов в растворах 1 М (34%) сахарозы и 0.2 М (30%) ПЭГ-1500 в течение 1 часа не было выявлено значимых отличий в гистограммах распределения $CD44^+$-клеток относительно контрольных образцов. Поэтому временной диапазон экспонирования клеток в присутствии данных соединений был увеличен с целью накопления незначительных по

величине изменений, обусловленных влиянием сахарозы и ПЭГ-1500 на клетки. Было установлено, что при 24ч инкубации в сахарозной среде уменьшение количества $CD44^+$-клеток и снижение уровня экспрессии данного поверхностного маркера относительно контроля были выражено в большей степени, чем уменьшение аналогичных параметров CD44 в эритроцитах в присутствии ПЭГ-1500.

Механизмы, лежащие в основе изменения характеристик CD44 в присутствии сахарозы и ПЭГ-1500, могут быть связаны с влиянием физико–химических свойств растворов на межмолекулярные взаимодействия в мембране. При этом на экспрессию CD44 могут влиять структурные модификации как липидного бислоя, так и изменения в системе белок-белковых взаимодействий в мембрано-цитоскелетном комплексе. Вследствие таких структурных перестроек усиливаются процессы везикуляции мембран с захватом интегрального белка CD44 в состав везикул, что ведет к снижению их экспрессии на поверхности клетки. При этом действие ПЭГ-1500 на структуру мембрано– цитоскелетного комплекса эритроцитов оказывается более «мягким» в сравнении с влиянием сахарозы.

При исследования действия 5, 10, 15 и 20% растворов сахарозы и ПЭГ-1500 на устойчивость эритроцитов при механическом стрессе установлено, что сахароза оказалась менее эффективной по сравнению с ПЭГ-1500, поскольку стабилизация клеток наблюдалась только при 5%-ной концентрации. Стабилизирующее действие ПЭГ-1500 на эритроциты в условиях механического стресса отмечалось в диапазоне концентраций 5−15% с максимальным защитным эффектом при 15%-й концентрации. Изменение устойчивости эритроцитов к механическому стрессу может быть результатом модификации различных компонентов мембрано-цитоскелетного комплекса под влиянием сахарозы и ПЭГ-1500, что ведет к неодинаковым последствиям в изменении физических свойств мембран эритроцитов при увеличении концентрации криопротекторов.

Таким образом, ПЭГ-1500 в сравнении с сахарозой в меньшей степени влияет на экспрессию мембранных маркеров и обеспечивает более высокий уровень механической устойчивости клеток в условиях стресса. Оценка изменений поверхностного маркера CD44 в эритроцитах, экспонированных в присутствии сахарозы и ПЭГ-1500, а также определение влияния данных криопротекторов на развитие гемолитических повреждений эритроцитов при механическом стрессе продемонстрировали, что лучшие криопротекторные свойства ПЭГ-1500 в сравнении с сахарозой могут быть обусловлены особенностями структурно-функциональной модификации определенных параметров мембрано-цитоскелетного комплекса эритроцитов.

Литература

1. Scott K.L. Lecak J., Acker J.P. Biopreservation of red blood cells: past, present, and future // Transfus. Med. Rev.− 2005. –V.19, № 2. – P. 127–142.

2. Physiologically aged red blood cells undergo erythrophagocytosis in vivo but not in vitro / Gottlieb Y., Topaz O., Cohen L A. et al. // Haematologica. – 2012. – V. 97**,** №7. – P. 994–1002.

3. The effects of cryopreservation on red blood cell microvesiculation, phosphatidylserine externalization, and CD47 expression / Holovati J.L., Wong K.A., Webster J.M., Acker J.P. // Transfusion. – 2008. – V. 48, №8 – P.1658–1668.

4. Do physical forces contribute to cryodamage? / Saragusty J., Gacitua H., Rozenboim I., Arav A. // Biotechnol. Bioeng. –2009 – V. 104, №4. – P. 719–728

УДК: 579.254.2:633.11

ДОСЛІДЖЕННЯ РІВНЯ СТІЙКОСТІ ДО ВОДНОГО ДЕФІЦИТУ Т3 ПОКОЛІННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ РОСЛИН ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

А.Г. Комісаренко[1], С.І. Михальська[2], В.М. Курчій[3]
[1,2,3] Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, вул. Васильківська, 31/17, Київ, 03022, Україна

На сьогодні створення біотехнологічних рослин, які будуть відзначатися підвищеним рівнем стійкості до осмотичних стресів за рахунок інтродукції генів, що контролюють синтез «сумісних» осмотично-активних речовин, здатних у значних концентраціях накопичуватися в клітинах рослин в умовах стресу є актуальним напрямком досліджень.

Особливий інтерес при вивченні механізмів індукції і підтримання стрес-стійкості до абіотичних факторів у рослин викликає пролін (Pro), який є одним із найбільш розповсюджених сумісних осмолітів у вищих рослин [1]. Ряд експериментальних даних свідчать на користь суттєвої ролі Pro при виживанні в умовах стресу [2, 3, 4].

Накопичення цієї амінокислоти під час стресу виникає як за рахунок збільшення швидкості його синтезу, так і за рахунок інгібування його деградації. Ферментом катаболізму Pro є проліндегідрогеназа (ProDH), зниження активності якого може привести до підвищення вмісту вільного проліну в клітинах рослин в нормальних умовах, і як результат збільшення їх стрес-стійкості.

На даний час при трансгенезі для підвищення рівня стрес-стійкості рослин використовуються векторні конструкції, які в своєму складі містять цільові гени, що контролюють синтез/катаболізм Pro. Дослідження ряду трансгенних рослин показало, що осмотолерантність може супроводжуватись збільшенням рівня вільного проліну [5, 6, 7, 8].

Нами в результаті *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації *in planta* з використанням векторної конструкції pBi2E, в складі якої міститься дволанцюговий (дл) РНК-супресор гена проліндегідрогенази (*ProDH*), були отримані біотехнологічні рослини озимої пшениці сорту Достаток і Поліська 90