Міністерство освіти і науки України

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
хіміко-біологічний факультет

Люблінська Вища Школа в Риках
Lubelska Szkoła Wyższa w Rykach, Poland

Ottawa Research and Development Centre (Agriculture and Agri-Food Department), Canada

Institute of Molecular Biology and Biotechnologies of Azerbaijan National Academy of Sciences

Тернопільське відділення
Українського товариства генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавилова

Тернопільське відділення
Українського гідроекологічного товариства

Тернопільське відділення
Українського біохімічного товариства

Тернопільське відділення
Українського ботанічного товариства

Тернопільське відділення
Українського товариства фізіологів рослин
Тернопільське відділення Товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського

УДК 57:502.1 (06)
Т 35

Редакційна колегія

О. І. Боднар (відповідальний редактор), Н. М. Дробик, В. В. Грубінко, С. В. Пида, В. З. Курант, О. Б. Столяр, Л. Р. Грицак, А. В. Степанюк, В. С. Барановський, В. О. Хоменчук, О.Б. Мацюк (секретар).

Затверджено до друку

вченою радою Тернопільського національного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка від 28. 05.2024 р. (протокол № 10)

Макет і комп'ютерна верстка: В.О. Хоменчук

Матеріали VII Міжнародної науково-практичної конференції «Тернопільські біологічні читання – Ternopil Bioscience – 2024», присвяченої 95-річчю від дня народження відомого вченого-фізіолога, мікробіолога і популяризатора науки, професора Кузьми Миколайовича Векірчика, 18-19 квітня 2024 р. Тернопіль: Вектор, 2024. 438 с.

У матеріалах висвітлені результати наукових досліджень з проблем фізіології та морфології організмів, молекулярно-генетичних і фізіолого-біохімічних особливостей організмів у трансформованому середовищі, біотехнології, екотоксикології, гідробіології, агрономії, біорізноманіття та шляхів його збереження, методики навчання природничих дисциплін, історії природничих наук.

© Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка, 2024
© Автори тез доповідей, 2024
© Вектор, 2024

Тези надруковані з максимальним збереженням авторської редакції. Українські та латинські назви рослин і тварин наведені за авторським текстом.

популяцій і кореляції між генетичними й еколого-географічними параметрами популяцій дослідженого виду.

Список літератури

1. Gemmill C. E. C., Grierson E. R. P. Inter-Simple Sequence Repeats (ISSR), Microsatellite-Primed Genomic Profiling Using Universal Primers. *Methods Mol Biol*. 2021. Vol. 2222. P. 249–262. doi: 10.1007/978-1-0716-0997-2_14.
2. Yu F., Yu F., Li R., et al. Inhibitory effects of the *Gentiana macrophylla* (Gentianaceae) extract on rheumatoid arthritis of rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004. № 95. P. 77–81.
3. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*. Canada, 1994. № 20 (2). P. 176–183.

УДК 611.018.53:618.48:57.086.13:577.121.7

ВПЛИВ L-КАРНІТИНУ НА УТВОРЕННЯ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ В ЯДРОВМІСНИХ КЛІТИНАХ КОРДОВОЇ КРОВІ ПРИ КРІОКОНСЕРВУВАННІ

Зубов П.М., Зубова О.Л.

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків

E-mail: pmzubov@gmail.com

Значущим проривом у галузі трансплантації гемопоетичних прогеніторних клітин (ГПК) стало використання кордової крові людини (КК), яка отримується при народженні дитини [1]. Всезростаюча увага з боку вчених і лікарів до використання КК призвела до необхідності створення кріобанків, у яких зразки зберігаються в замороженому стані за температури -196ºС. Проте, процеси обробки кріопротекторами та заморожування-відігрівання можуть викликати неконтрольоване утворення в клітинах активних форм кисню (АФК) з подальшим розвитком деструктивних процесів [3]. Тому додавання до кріозахисного середовища антиоксидантів повинно сповільнити розвиток оксидативного стресу і, таким чином, покращити результати кріоконсервування [2].

Метою роботи була оцінка антирадикальної активності антиоксиданту L-карнітину при кріоконсервуванні ядровмісних клітин кордової крові людини з 7,5% ДМСО.

Виділення фракції ядровмісних клітин (ЯВК) із цільної КК проводили методом седиментації у поліглюкіні. В якості кріопротектора використовували ДМСО у кінцевій концентрації 7,5%. L-карнітин (LC) використовували в кінцевих концентраціях 1; 5, 10; 15; 20; 50 мМ. Кріоконсервування проб КК проводили на програмному заморожувачі зі швидкістю 1ºС/хв до -80ºС з наступним зануренням до рідкого азоту. Вміст АФК в ЯВК КК оцінювали методом протокової цитофлуориметрії з використанням дихлородигідрофлуоресцеїн діацетату (DCF^+-клітини). Оцінку стадій апоптозу ядровмісних клітин з подальшим визначенням живих клітин з непошкодженою мембраною ($AnnexinV^-7AAD^-$ клітини) проводили цитофлуориметричним методом з одночасним внесенням до зразків маркерів Annexin V FITC, CD45PE і 7-AAD.

При визначенні впливу ДМСО та різних концентрацій LC на кількість клітин із надлишковим вмістом АФК показали, що зразки, заморожені тільки в присутності 7,5% ДМСО, характеризувалися кількістю клітин з надмірним вмістом АФК на рівні 19-23%. Внесення в середовище кріоконсервування LC [4] забезпечувало зниження кількості DCF^+-клітин в деконсервованих пробах в середньому на 15-24%. Найефективнішими виявились концентрації LC 15-20 мМ. Для з'ясування ефективності методу кріоконсервування можна застосовувати підхід по визначенню після розморожування кількості живих клітин з неушкодженою мембраною ($AnnexinV^-7AAD^-$). Використання методу протокової цитофлуориметрії з використанням вітального ДНК барвника 7-AAD, який зв'язується тільки з деспіралізованою молекулою ДНК, дозволяє, як показали додаткові тести (у тому числі культуральні), ідентифікувати саме живі клітини. Annexin V, який фіксує наявність екстерналізованого на зовнішньому моношарі мембрани фосфатидилсерину, дозволяє виявити клітини на першій стадії апоптозу, які при потраплянні в кровоносне русло будуть додатково елімінуватися макрофагами, оскільки втрата трансмембранної асиметрії фосфоліпідів є однією

з невід'ємних ознак розвитку апоптозу в клітинах та тригером для їх поглинання. При аналізі виходу отриманих після кріоконсервування з 7,5% ДМСО життєздатних клітин з неушкодженою мембраною було показано, що в контролі вихід таких клітин складав близько 54% у порівнянні з пробами до кріоконсервування. Визначення виходу живих неушкоджених клітин після розморожування з ДМСО та LC продемонструвало більше збереження таких клітин в усіх експериментальних групах, що містили антиоксидант, починаючи з найнижчої концентрації 1 мМ. Значущі відмінності спостерігалися в пробах, що містили у складі кріопротекторного розчину 7,5% ДМСО та 15-20 мМ LC. В цих пробах зберігалося на 14% більше живих клітин у порівнянні з контрольними зразками, які не містили антиоксидант.

Таким чином, було показано, що внесення розчину ДМСО до суспензії ядровмісних клітин кордової крові людини та подальше їх кріоконсервування призводить до розвитку окисних процесів з підвищеним утворенням активних форм кисню, які можуть знижувати збереженість клітин та їх життєздатність. Сумісне застосування в кріозахисному середовищі ДМСО в концентрації 7,5% та 15-20 мМ L-карнітину сприяє підвищенню кількості живих клітин з неушкодженою мембраною.

Список літератури

1. Ballen K.K., Gluckman E., Broxmeyer H.E. Umbilical cord blood transplantation: the first 25 years and beyond. Blood. 2013. Vol. 122, № 4. P. 491–498.
2. Banday M.N., Lone F.A., Rasool F. Use of antioxidants reduce lipid peroxidation and improve quality of crossbred ram sperm during its cryopreservation. Cryobiology. 2017. Vol. 74. P. 25–30.
3. Djuwantono T., Wirakusumah F.F., Achmad T.H. Comparison of cryopreservation methods: slow-cooling vs. rapid-cooling based on cell viability, oxidative stress, apoptosis, and CD34+enumeration of human umbilical cord blood mononucleated cells. BMC Res. Notes. 2011. № 4. P. 371.
4. Surai, P.F. Antioxidant action of carnitine: molecular mechanisms and practical applications. EC Veterinary Science. 2015. V. 2, № 1. P. 66–84.