

metals and toxic substances. To counteract oxidative stress and repair further damage, bacteria use various defense mechanisms, including the formation of low molecular weight thiols. Thiols play an important role in maintaining the redox potential of the cytoplasm.

The goal of the research was to analyze the content of exopolymeric substances and thiols synthesized by *Paenibacillus tundrae* IMV B-7915 under the influence of copper (II) chloride.

The bacteria were incubated for 1 hour in Tris-HCl buffer (pH 7.5) that contained CuCl_2 at concentrations of 2-8 mM. After incubation, the bacteria were washed and transferred to tryptic-soy broth medium and cultured for 72 hours. The protein concentration was determined by the Bradford method. For the isolation of exopolysaccharides, ethylenediaminetetraacetic acid (2%) was added to the bacterial cell suspension and incubated at 4 °C for 3 hours. After that, the mixture was centrifuged at 8300 g for 20 min at 4 °C. The content of exopolysaccharides in supernatant was determined by reaction with anthron. The total thiol content in the cell-free bacterial extract was detected by reaction with 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic) acid.

The accumulation of copper in *P. tundrae* IMV B-7915 cells caused a decrease in the specific growth rate during 24 hours of bacterial growth. The specific growth rate decreased with increasing of copper content in the cells. During 48-72 hours of cultivation the specific growth rate of bacterial cells incubated in buffer with copper (II) chloride didn't differ from the control. Bacteria *P. tundrae* IMV B-7915 under the influence of 8 mM CuCl_2 synthesised 26.38 % more exopolysaccharides compared to the control. At the influence of 7 mM CuCl_2 the content of exopolysaccharides was higher by 11.96 % compared to the control. At other concentrations, no changes in exopolysaccharide content were detected. The content of extracellular proteins did not differ from the control under the influence of 2-8 mM copper (II) chloride.

The total thiol content in *P. tundrae* IMV B-7915 cells increased significantly during 1 hour of bacterial growth. It was slightly lower compared to the control or didn't differ during next hours of cultivation.

МОЛЕКУЛЯРНА ТА КЛІТИННА БІОЛОГІЯ MOLECULAR AND CELL BIOLOGY

Аракелян К.¹, Губеня О.²

ДОСЛІДЖЕННЯ ЗДАТНОСТІ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН
ДО АНГІОГЕНЕЗУ *IN VITRO* ПІСЛЯ ЗБЕРІГАННІ У СКЛАДІ
АЛЬГІНАТНИХ МІКРОСФЕР

¹ Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
майдан Свободи 4, м. Харків, 61022, Україна

² Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України
вул. Переяславська 23, м. Харків, 61016, Україна
e-mail: arakelyankamilla@gmail.com

Arakelian K., Hubenia O. STUDY OF ENDOTHELIAL CELLS ANGIOGENESIS POSSIBILITY AFTER ENCAPSULATION INTO ALGINATE MICROBEADS. Efficient preservation technologies required for endothelial cells is used in medicine and laboratory practice. Cell preservation at hypothermia may be more safe and beneficial for short-term storage. Herein, we have shown that Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC) encapsulation into alginate resulted in maintaining viability and angiogenesis possibility after encapsulation.

Попередні наші дослідження виявили, що інкапсуляція стовбурових клітин з кісткового мозку та шкіри людини в альгінатні мікросфери призводить до зворотної зупинки клітинного циклу, зниження метаболічної активності та виробництва активних

форм кисню, підвищення стійкості до окислювального стресу. Зміни метаболічного стану інкапсульованих клітин сприяли більш тривалому збереженню життєздатності при зберіганні клітин за гіпотермічних умов. Проте відкритим є питання, чи зберігають клітини, зокрема ендотеліальні, свій ангіогенний потенціал після їх введення в культуру з гіпотермічного зберігання, вивільнення з альгінатних мікросфер (АМС).

Експерименти проводили на ендотеліальних клітинах пупкової вени людини (HUVEC, Thermo Scientific, A1460901). Клітини культивували при 37°C, 5% CO₂ і 95% вологості в середовищі, що складалося з Medium 200 (Gibco, ready for use grade), 50 мкг/мл пеніциліну, 50 мкг/мл стрептоміцину. Інкапсуляцію проводили шляхом електророзпилення. Інкапсульовані HUVEC у АМС зберігали в 35 мм чашках (Eppendorf) за температури 22 °C в середовищі культивування протягом 3 діб. Кожну добу брали зразок мікросфер для аналізу життєздатності клітин методом подвійного фарбування флуоресцеїну діацетатом / бромідом етидію. Через 3 доби зберігання в інкапсульованому стані, клітини вивільняли з мікросфер, відмивали від залишків альгінатної оболонки та ресуспендували в середовищі, що складалося з Medium 200 (Gibco) та розчину-індуктору ангіогенного диференціювання LVEs (Gibco) у складі набору «Gibco Angiogenesis Starter Kit» (Thermo Scientific, A1460901). На основі суспензії клітин та матриксу Geltrex (Thermo Scientific) була сформована тривимірна культура клітин, індукованих в ангіогенному напрямку. Здатність клітин до ангіогенезу оцінювали протягом 72 години кожні 24 години за інтенсивністю проліферації клітин, морфологією клітин та здатністю утворювати прокапілярні структури з використанням наборів «Angiogenesis Assay Kit In Vitro» (Abcam, ab204726) та «Cell Proliferation Staining Reagent - Deep Red Fluorescence – Cytopainter» (Abcam, ab176736). Візуалізацію клітин, їх автоматичний підрахунок та морфометрію проводили з використанням лазерної скануючої мікроскопії (Olympus FV10i-LIV) та програмного забезпечення CellSense.

Виявлено, що після інкапсуляції та зберігання в гіпотермічних умовах протягом 3 діб, ендотеліальні клітини зберігають здатність диференціювання в ангіогенному напрямку – клітини активно проліферують та утворюють розгалужені прокапілярні структури.

Висловлюємо подяку к.б.н. Н. А. Труфановій (Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України) за допомогу при інкапсуляції клітин; к.б.н. Ю. Г. Коту (Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна) за допомогу та консультації при проведенні дослідження.

Козир Ю.¹, Губеня О.², Арістова Д.³

**ВПЛИВ НОВИХ ПЕНТАМЕТИНОВИХ ЦІАНІНОВИХ ФЛУОРЕСЦЕНТНИХ
БАРВНИКІВ НА СТУПІНЬ УШКОДЖЕННЯ ЯДЕРНОЇ ДНК МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ
СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ЛЮДИНИ *IN VITRO***

¹ Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
майдан Свободи 4, м. Харків, 61022, Україна

² Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
вул. Академіка Заболотного 150, м.Київ, 03143, Україна

³ Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України
вул. Переяславська 23, м. Харків, 61016, Україна
e-mail: juli.akozyr777@gmail.com

Kozyr Yu., Hubenia O. Aristova D. THE EFFECT OF NEW PENTAMETHINE CYANINE DYES ON LEVEL OF hMSC NUCLEAR DNA DAMAGE *IN VITRO*. We have studied the series of pentamethine cyanine dyes derived from benzothiazole heterocycles with different substituents emitted on near-infrared region. Incubation of human skin-derived mesenchymal stem cells with cyanine dyes 1871SI and 1749SI (1μM) leads to an increase in the induction of apoptosis in cells, increase in level of apoptosis-induced nuclear DNA fragmentation.