

**Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна
Національної академії наук України**

**Збірник тез
конференції-конкурсу молодих вчених**

“Актуальні проблеми біохімії та біотехнології - 2021”

присвяченої 30-річчю Незалежності України



**20 – 21 травня 2021
Київ**

УДК 577
ББК 28.07
А 437

*Рекомендовано до друку Радою молодих вчених
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України
Протокол №2 від 7 травня 2021 року*

Відповідальна за друк Яценко Т.А.

**Збірник тез конференції-конкурсу молодих вчених
А437 «Актуальні проблеми біохімії та біотехнології – 2021»**

Білоус В.Л., Павлова О.С., Кирилюк І.Р., та ін. (за редакцією Яценко Т.А., Мазанова А.О., Горак І.Р.) – "Актуальні проблеми біохімії та біотехнології - 2021". – К.: Санченко АВ. – 2021 – 44 с.

ISBN 978-617-7026-69-2

У збірнику вміщено матеріали конференції, яка відбувалася в Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України 20-21 травня 2021 р та була присвячена сучасним біохімічним та біотехнологічним дослідженням молодих учених в Україні.

УДК 577
ББК 28.07

ISBN 978-617-7026-69-2

I. Медична біохімія

PROTECTIVE EFFECTS OF THIAMINE AND METHOVITAN TREATMENT IN CORNEA OF RATS EXPOSED TO CHRONIC ETHANOL CONSUMPTION

V.L. Bilous¹, O.S. Pavlova¹, I.R. Kyryliuk²

¹ Palladin Institute of Biochemistry of NAS of Ukraine, Kyiv

² National University of Kyiv-Mohyla Academy

basil.bilous@gmail.com

Introduction. High alcohol consumption leads to ocular disorders, such as cataract, dry eye syndrome and blindness. However, little is known about molecular mechanisms of chronic alcohol impact on cornea. Thiamine deficiency is common in drinkers who consume excessive amounts of alcohol.

Aim. This study was designed in order to check if administration of vitamin B₁ and antioxidant complex preparation ‘Methovitan’ can display beneficial effects in cornea of rats affected to a long-term alcohol consumption.

Methods. White albino male rats (n = 12) were affected to 15% (v/v) EtOH aqueous solution as a non-alternative source of drinking water for 9 months. One week before the experiment termination, 1/3 of EtOH-exposed rats were given thiamine (25 mg/kg b.w.) and 1/3 of rats were administered with the same dose of ‘Methovitan’ plus thiamine. The levels of hypoxia-inducible factor (HIF1- α), counteracting angiogenesis regulators (angiostatin and VEGF), matrix metalloproteinases (MMP-2 and -9), protein of tight junctions of epithelial cells (ZO-1), and apoptotic index Bcl-XL/Bax were evaluated by Western blot in corneal protein lysates.

Results. We found that chronic ethanol consumption caused significant elevation in HIF1- α , VEGF, MMP-9 and angiostatin levels and dramatically decreased Bcl-XL/Bax ratio in cornea compared with control. Administration of thiamine alone and in combination with ‘Methovitan’ reduced HIF1- α , MMP-9 and angiostatin levels, while up-regulated VEGF, MMP-2, and ZO-1 levels and increased Bcl-XL/Bax ratio in cornea of EtOH-exposed rats.

Discussion. Thiamine and its coadministration with ‘Methovitan’ ameliorated the consequence of chronic alcohol consumption, including hypoxia, tissue remodeling, apoptosis, and disruption of epithelium integrity in cornea of rats. Beneficial effects of tested preparations may be due to their ability to improve aerobic metabolism, alleviate mitochondrial dysfunction and apoptosis, protect from oxidative stress, hypoxia and inflammation in corneal cells.

Conclusions. Thiamine supplementation can be used for effective correction of the eye disorders associated with EtOH-related damage to cornea, especially during abusive alcohol drinking.

Acknowledgment. The authors would like to sincerely thank and graciously appreciate Prof. Parkhomenko Yu.M. and Dr. A.A. Tykhomyrov for their support.

FREE RADICAL PROCESSES IN THE MITOCHONDRIAL FRACTIONS OF RATS' LIVER UNDER THE CONDITIONS OF BPA ADMINISTRATION AND LOW-LEVEL LASER IRRADIATION

V. Borschovetska, V. Ivantsiv

Yuriy Fed'kovych Chernivtsi National University, Chernivtsi

v.borschovetska@chnu.edu.ua

Introduction. Many xenobiotics may induce the damage of mitochondria due to the enhanced generation of reactive oxygen species. Bisphenol A (BPA), the xenoestrogen and plasticizer, can induce mitochondrial dysfunction via the shift in the balance between oxidants and antioxidants. Low-level laser irradiation (LLLI) may influence oxidative stress parameters by changing the activity of antioxidant enzymes and the production of ROS. The aim of this study is to investigate the effect of low-level laser irradiation on oxidative stress parameters in mitochondrial fractions of rats under the conditions of BPA administration.

Methods. The experimental animals were male Wistar rats (2.5-3 month age, 120-150 g). The BPA was administered *per os* daily for 3 days at a dose of 50 mg/kg body weight (experimental group I). LLLI (50 mW, 650 nm, 2 min) was performed after each (experimental group II) or last (experimental group III) administration of xenobiotic by the irradiation of the skin surface at the anatomical site of the liver. The activity of antioxidant enzymes and the content of free radicals was spectrophotometrically determined in the mitochondrial fraction of the liver.

Results. In the present study, the decrease of SOD, CAT, GPx activities (at 2-, 1,9- and 1,6-fold respectively) and significantly higher levels of free radicals were observed than those of the control group. LLLI treatment simultaneous with the administration of BPA did not affect the study indicators. At the same time, laser irradiation after BPA exposure resulted in increased studied enzyme activities and a decreased level of superoxide radical in hepatic mitochondrial fraction compared with the BPA-administered animals.

Discussion. Short-term BPA exposure results in the induction of free radical processes in hepatic mitochondria by the enhanced generation of $O_2^{\bullet -}$ and OH^{\bullet} and decreased activity of antioxidant enzymes. LLLI reduces the prooxidant effect of this xenobiotic in mitochondria by enhancing the antioxidant potential, which is primarily associated with conformational changes induced by a short-term increase in the temperature of light-absorbing biomolecules. This effect was observed only in the case of LLLI after BPA exposure.

Conclusions. The effect of LLLI on the BPA-induced free radical processes in mitochondria of rats' liver is mode-dependent.

Acknowledgement. We would like to express our gratitude to the supervisor Prof. Mykhailo Marchenko, Institute of Biology, Chemistry and Bioresources, Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University for his help in this research work.

NEURAL CELL ADHESION MOLECULE LEVEL AND ANTIOXIDANT SYSTEM AFTER INTRACEREBRAL HEMORRHAGE

O.O. Dovban, Y.P. Kovalchuk

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

dovbanelena@gmail.com

Introduction. Intracerebral hemorrhage is an important health problem leading to high rates of death and disability. Intracerebral hemorrhage (ICH) causes marked perihematomal edema formation, neurological deficits, and brain cell injury. The resulting hematoma within brain parenchyma triggers a series of events leading to secondary insults and severe neurological deficits. Changes in neural cell adhesion molecule (NCAM) levels are known to be the key factor contributing to neuronal plasticity. Involvement of antioxidant enzymes during hematoma formation is suspected.

The study aimed to evaluate changes in NCAM, catalase and TBA-active products levels in different parts of the brain of rats after intracerebral hemorrhage.

Methods. This research was performed on 18 Wistar rats. Animals were divided into three groups (n = 6): 1 – intact, 2 – falsely operated (FO), 3 – experimental intracerebral hemorrhage (EICH). All animals had food and water ad libitum. After the experiment, all animals were decapitated under mild anesthesia, cerebellum and hippocampus isolated from the rat's brains were used for differential ultracentrifugation, and fractions with water-soluble cytoplasmic proteins were obtained. The levels of NCAM in obtained fractions were measured with competitive ELISA. Statistics were provided using the one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's test for multiply comparisons. Values with $P < 0.05$ were considered reliable.

Results. The content of NCAM in the cerebellum in the FO group was increased by 32% and by 39% in animals with EICH compared to the intact group. In the hippocampus, the content of NCAM in the EICH group of rats was increased by 32% compared to the intact group. Catalase and TBA-active products levels in the hippocampus were increased in the EICH group compared to the intact group of animals by 29% and 23%.

Discussion. The obtained data indicate a significant increase in the level of NCAM in the cerebellum and hippocampus of experimental rats in both the FO group and in the EICH group, compared to the intact group of rats.

Conclusions. NCAMs occupy an essential position as they undertake the regulation of fundamental events: physical interactions that occur between brain cells. The significant expression level NCAM changes seen in our study may contribute to dysfunction and/or healing following injury.

Acknowledgment. We would like to express our gratitude to our research supervisor Dr. Sci, Prof. Galyna Ushakova and Dr. Sci, Prof. Volodymyr Zhyliuk for their support in the development of the ideology of experiments, guidance and advice.

CORRECTIVE EFFECT OF VITAMIN D₃ ON BONE REMODELING IMBALANCE IN EXPERIMENTAL TYPE 2 DIABETES

A.O. Mazanova, A.V. Khomenko, D.O. Labudzynski, O.Yu. Lototska

Palladin Institute of biochemistry of NAS of Ukraine, Kyiv

ann.mazanova@gmail.com

Introduction. Vitamin D₃ deficiency has been considered as a risk factor of type 2 diabetes (T2D). T2D is often accompanied by secondary osteoporosis (SO) due to impaired bone remodeling through changes in receptor activator of nuclear factor κ B ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) ratio, downstream signaling molecules (pNF- κ B, peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) γ and tumor necrosis factor (TNF) α , as well as dysfunction of the bone vitamin D₃-auto/paracrine system. Our aim was to establish molecular markers of T2D-associated SO and to evaluate protective effect of vitamin D₃.

Methods. T2D was induced in male Wistar rats by combination of high-fat diet and i.p. injection of STZ (25 mg/kg, b.w). Rats were divided into 3 groups: control, T2D and T2D+D₃ (780 IU/kg, orally, 30 days). 25OHD was measured by ELISA; levels of VD receptor (VDR), RANKL, PPAR γ , phosphoNF- κ B (Thr 254) were detected by Western blot; *Vdr*, *Cyp27b1*, *Cyp24a1*, *RelA*, *Pparg* and *Tnfa* mRNAs were measured by RT-qPCR.

Results. T2D was accompanied by 2.6-fold decrease in blood 25OHD, downregulation of VDR protein and mRNA (3.3- and 1.3-fold) and increase in *Cyp27b1*, *Cyp24a1* (1.9- and 9.3-fold) in bone tissue. We also found upregulation of *RelA*, *Tnfa*, *Pparg* and *Rankl/Opg* mRNA ratio in bone tissue of T2D animals. Changes at transcription level were confirmed by an increase in the content of phosphoNF- κ B (Thr 254), PPAR γ and RANKL proteins (1.6-, 2.7-, and 1.1-fold respectively). Cholecalciferol treatment led to normalization of vitamin D bioavailability in T2D animals, restoration of vitamin D₃-auto/paracrine system and *Rankl/Opg* ratio as well as downregulation of pro-resorptive cytokines.

Discussion. There are several possible mechanisms of T2D associated SO: increase in RANKL-dependent pro-inflammatory factors as phosphoNF- κ B (Thr 254) and TNF α ; elevation of RANKL-mediated bone resorption through PPAR γ and disturbance of osteoblast/osteoclast equilibrium caused by dysfunction of D₃-auto/paracrine system. Cholecalciferol exhibits its anti-resorptive effects through VDR-mediated regulation of pro-inflammatory transcription factors and restoration of RANKL-dependent bone remodeling.

Conclusions. Normal vitamin D₃ availability in the T2D is critically important for prevention of SO development through downregulation of pro-resorptive inflammatory cytokines.

Acknowledgement. Sincere gratitude to PhD Ihor Shymanskyi and Prof. Mykola Veliky for comprehensive support of this work.

THE STATE OF VITAMIN D AUTO/PARACRINE SYSTEM IN RATS WITH PREDNISOLONE-INDUCED NEUROTOXICITY

M. Nuriakhmetova, O. Lisakovska

Palladin Institute of Biochemistry, Kyiv

nuriakhmetova@nas.gov.ua

Introduction. Glucocorticoid (GC)-induced neurotoxic disturbances are common. Recent studies show neuroprotective effects of vitamin D₃ (VD) due to its anti-inflammatory, immunomodulatory, and regulatory influence. The **study aimed** to define morphofunctional changes, VD status and the state of VD-auto/paracrine system in brains of rats and investigate the neuroprotective effects of VD treatment in chronic loading of synthetic GC prednisolone.

Methods. Female Wistar rats: control group of rats; rats that received synthetic GC prednisolone (5 mg/kg b.w.) with/without VD (1000 IU mg/kg b.w.) for 30 days. Histological staining, western blotting, qRT-PCR, and ELISA were used.

Results. Morphofunctional changes of structural areas of the brain of GC-administrated rats were observed, such as: a cell density decrease in the CA2 and CA3 sectors of the hippocampus; an increase in the volume of pyramidal cell nuclei, with an elevated level of euchromatin; neurodystrophic changes in the cerebellum ganglion layer; changes in sizes of neurons in prefrontal and sensory-motor cortex. These changes were accompanied by a reduction of the 25OHD level in serum (4-fold) and brain tissue (2.1-fold) of GC-administered rats, which indicates GC-induced VD deficiency. GC administration led to a 6-fold increase of *vdr* mRNA and 41% *vdr* protein content in rats' brains. GC induced 5-fold rise of *cyp27b1* mRNA and 5.5-fold decrease of *cyp24a1* mRNA levels in brain tissue in comparison to control group, which may reflect effects of the compensatory response of VD auto/paracrine system to GC-induced VD deficiency. In the VD-administered group, a pronounced reduction of the soma and nuclei square in comparison to GC-group was shown. VD treatment substantially boosted the level of 25OHD (vs. GC-group) in serum and brain tissue, 3.5-fold reduced (vs. GC-group) the level of *vdr* mRNA as well as the protein level, diminished the *cyp27b1* mRNA to 10-fold lower level vs. GC group and 2-fold lower vs. control group.

Conclusions. GC-induced neurotoxicity was accompanied by changes in structural areas of the rats' brains. A reduced bioavailability of 25OHD in brain tissues led to misbalance of *vdr*, *cyp27b1* and *cyp24a1* mRNA levels, which suggest an activation of the brain D-auto/paracrine system. VD treatment led to normalization of VD status, partly corrected the GC-induced morphofunctional changes in structural areas of the brain, and diminished the *cyp27b1* and *vdr* mRNA levels.

Acknowledgements. We thank Prof. Veliky M.M., Head of Department of Biochemistry of Vitamins and Coenzymes, who provided his expert opinion, Dr. Shymanskyi I.O., PhD for great assistance in the research and Khomenko A.V., PhD for measuring 25OHD₃ levels in the rats' brain for the study.

ALTERATIONS OF THE FUNCTIONALLY IMPORTANT PROTEINS IN BRAIN UNDER DIABETES MELLITUS: EFFECT OF NICOTINAMIDE

T. Tykhonenko

Palladin Institute of biochemistry of NAS of Ukraine, Kyiv.

tetiana.tykhonenko@gmail.com

Introduction. Diabetes mellitus (DM) is associated with a wide range of neurological complications due to its deleterious influence on the central nervous system (CNS). However, the molecular mechanism underlying development of diabetes-induced alterations in the brain is not completely understood. Identification of mechanisms leading to development of neurological complications may provide a new therapeutic approach for averting and/or treating neurodegenerative disorders caused by DM. Nowadays many studies have focused on the therapeutic benefits of natural compounds. Therefore, the **aim** of the present study was to evaluate the effect of nicotinamide (NAM) on some important brain proteins at DM to uncover the basic mechanisms of its action.

Methods. For experiments we used model of type 2 diabetes mellitus induced by high-fat diet combined with a low-dose STZ injection (25 mg/kg, b.w., i.p.) in male Wistar rats (\approx 220 g, b.w.) treated for two weeks with or without NAM (100 mg/kg, b.w., i. p.). The level of neuronal nitric oxide synthase (nNOS), glial fibrillary acidic protein (GFAP), zonula occludens-one (ZO-1), poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP-1) were assessed in hippocampus by immunoblotting followed by densitometric analysis.

Results. The experimental diabetes was characterized by hyperglycemia (blood glucose level increased in 2.8-fold) and slightly increasing of body weight compared with control. NAM affected neither blood glucose level nor body weight in diabetic rats. DM induced 1.6-fold up-regulation of nNOS in diabetic group compared to control ($P < 0.05$). Treatment by NAM decreased the level of this parameter by 2.2-fold. GFAP expression was decreased by 1.4 times in diabetic group, while NAM elevated it by 1.2 times compared to diabetes ($P < 0.05$). Content of PARP-1 and ZO-1 were not changed in the hippocampus of diabetic rat brain.

Conclusions. The obtained results indicate that NAM positive action on brain functions could be realized via improving angiogenic factors expression, modulating astroglial response and cytoskeletal morphological rearrangements of injured neural cells, that could prevent a development of neurodegenerative disorders caused by DM.

Acknowledgement. I am grateful to Prof. Kuchmerovska T.M. for her guidance and advice and to PhD Guzyk M.M. for his help in performing experiments.

A COMMON FOOD ADDITIVE E407a PROMOTES INFILTRATION OF THE SMALL INTESTINAL LAMINA PROPRIA WITH CD3⁺ AND CD68⁺ CELLS IN RATS

A. S. Tkachenko, A. I. Onishchenko, H. V. Polikarpova

Kharkiv National Medical University, Kharkiv

antontkachenko555@gmail.com

Introduction. Nowadays food additives E407 and E407a, which are also referred to as food-grade carrageenan and semi-refined carrageenan, respectively, are common thickeners and gelling agents in the international food market. However, recent studies have challenged their biosafety. The aim of this study was to assess the impact of semi-refined carrageenan intake on the amount of macrophages (CD68⁺ cells) and T-lymphocytes (CD3⁺ cells) in the small intestinal stroma.

Methods. Expression of CD3 and CD68 in the small intestine was assessed in 16 female WAG rats immunohistochemically. Eight rats were orally treated with E407a solution (140 mg/kg of weight) during two weeks (experimental group), while 8 animals obtained water (controls). Immunostaining scoring was performed. The total number of CD68⁺ and CD3⁺ cells per square mm and CD68⁺/CD68⁻ and CD3⁺/CD3⁻ ratios in the small intestinal lamina propria were compared.

Results. Analysis of CD3 and CD68 expression in the small intestinal lamina propria allowed us to reveal an increase in the number of cells that expressed the markers mentioned above in response to semi-refined carrageenan intake. The amount of macrophages in the lamina propria was statistically significantly ($p < 0.0001$) 2.3 times higher, while the number of CD3⁺ T-lymphocytes was 2.2 times higher ($p < 0.0001$) in rats treated with E407a compared with controls. Moreover, consumption of the food additive was associated with higher CD68⁺/CD68⁻ and CD3⁺/CD3⁻ ratios in the small intestine.

Discussion. Our findings indicate that semi-refined carrageenan cannot be considered safe at a dose used in this study. Changes in the number of CD68⁺ and CD3⁺ cells in the intestinal stroma are indicative of the development of inflammation as a result of E407a intake. It is worth mentioning that mechanisms of inflammation induction by E407a are not fully understood. In particular, it has been reported that carrageenans can induce reactive oxygen species (ROS) production by cells. However, our previous *in vitro* studies don't support this hypothesis.

Conclusions. Oral exposure to semi-refined carrageenan during 2 weeks is accompanied by macrophage and T-lymphocyte infiltration of the lamina propria in the small intestine indicating the development of enteritis.

ЕКСПРЕСІЯ ГЕНУ *NOS2* ТА АКТИВНІСТЬ СИНТАЗИ ОКСИДУ АЗОТУ ЗА ЛУЖНОГО ОПІКУ СТРАВОХОДУ І ЗА ВВЕДЕННЯ МЕЛАНІНУ

Н.М. Чорненко, А. С. Юет, Я.Б. Расцька

*Київський Національний Університет ім. Т.Шевченка,
ННЦ "Інститут Біології та медицини", Київ.*

nata.chornenka24@gmail.com

Вступ. Опіки стравоходу займають одне з провідних місць в структурі гострих отруень. Оксидативний стрес є однією із причин ускладнень загоєння за опіків, одну з провідних ролей у цьому процесі відіграє оксид азоту. Меланін є поліфенольною сполукою, яка проявляє потужні антиоксидантні властивості. Метою роботи було дослідити активність синтази оксиду азоту, а також експресію гену *NOS2* за лужного опіку стравоходу (ЛОС) та за введення меланіну.

Матеріали і методи. У дослідах використовували щурів масою 90-110 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Тваринам моделювали ЛОС 20% розчином NaOH. Меланін вводили протягом 14 днів. Відбір матеріалу відбувався на 7, 15 та 21 доби. Активність NO-синтази визначали спектрофотометричним вимірюванням кінцевого продукту реакції – L-цитруліну. з модифікаціями. Експресію генів у крові визначали методом ПЛР зі зворотною транскрипцією. Подальший обрахунок результатів відбувався за допомогою двофакторного дисперсійного аналізу (two-way ANOVA) із пост тестом Бонферонні, а також у програмі Excel.

Результати. Рівень експресії гена *NOS2* в крові, у групі тварин з опіками стравоходу, був вищим у 4,2 і 2,6 раза на 7 і 15 добу загоєння відповідно в порівнянні з контролем. За введення меланіну цей показник був в 1,5 раза нижчим на 7 добу, порівняно з ЛОС. Активність iNOS в сироватці крові за умов опіку підвищувалась на 7, 15 та 21 добу на 24,6%, 43,9% та 20,5% відповідно, порівняно з контролем. Встановлено, що активність iNOS в сироватці крові за ЛОС за умов введення меланіну була нижчою на 7,15 та 21 добу на 22,2%, 22,1% та 13,6% відповідно, порівняно з показниками за ЛОС.

Висновки. Отже, при визначенні активності індукбельної синтази оксиду азоту було встановлено, що максимальне підвищення досліджуваного показника спостерігалось на 15 добу після ЛОС. В той час як експресія гену *NOS2* була найвищою на 7 добу після ЛОС. Було показано позитивний вплив меланіну на зниження активності iNO-синтази та експресії гену *NOS2*.

Подяка. д.б.н., професор Савчук О.М., д.б.н., професор Остапченко Л.І.

II. Біотехнологія

MONOMETHINE CYANINE DYE AS RNA-SELECTIVE PROBE FOR FLUORESCENCE MICROSCOPY

D. Aristova, V. Kosach, S. Chernii

Institute of Molecular Biology and Genetics NASU, Kyiv, Ukraine

dar.arist@gmail.com

Introduction. Nowadays, the visualization of cellular components, such as molecules, structures, and organelles, is becoming an increasingly popular biomedical research method. Fluorescent probes are effective small molecular tools for optical imaging of the cells due to their sensitivity and specificity. Thus, the present research aimed to develop the fluorescent probe for RNA visualization in the cell of the monomethine cyanine class.

Methods. Fluorescence and absorption spectroscopies, fluorescence, and confocal microscopies were used to characterize spectral-luminescent properties and selectivity of studied dyes.

Results. All studied dyes possess negligible fluorescence intensity in a free state. However, the addition of nucleic acids leads to a significant increase in fluorescence. The most sensitive benzothiazole quinoline cyanine dye, SI-2598, increases its emission up to 479 times in the presence of RNA, with a quantum yield value equal to 44%. In the presence of dsDNA, the fluorescence value was lower by 3 times. Thus, it was suggested that this dye be sensitive to RNA-containing structures in the cell.

Therefore, we have performed staining of live and fixed cells of human breast cancer MCF-7. Fluorescence microscopy has shown that all dyes penetrate the plasmatic and nuclear membrane and stain large structures within the nucleus, most probably nucleoli, with a weak fluorescent background in the cytoplasm. To confirm the localization of the dye SI-2598 in nucleoli, we have performed the co-localization analysis with anti-Ki-67 antibodies. It is known that Ki-67 protein presents within nucleoli during interphase. The data has shown overlap fluorescence of the dye and anti-Ki-67 antibodies, indicating the localization of the dye SI-2598 in nucleoli.

We have decided to perform RNase A treatment experiment before staining by the dye to prove that dyes prefer to bind to RNA in the cell. The data has shown that the nucleoli and cytoplasm's fluorescence almost disappeared after 3h of RNase digestion. Thus, these results allow us to conclude that the studied dye SI-2598 binds specifically to RNA in the cells. The obtained data correlate with the spectral-luminescent measurements that showed a higher fluorescent response and, thus, the higher dye's sensitivity to RNA than to dsDNA.

We have also studied the photobleaching parameter of SI-2598. Our research has shown that under direct irradiation of cells stained by the dye SI-2598 retains the stability of fluorescence in the nucleoli for 7 minutes. Such stability to photobleaching at the level or exceeds the world's available fluorophores.

Conclusions. Due to the high sensitivity to RNA and good photostability, benzothiazole quinoline cyanine SI-2598 is proposed as an efficient high-sensitive stain for nucleoli visualization in live and fixed cells.

Acknowledgments. This work was supported by the grant H2020-MSCA-RISE N872331 and Dr.hab V.Kovalska.

ВПЛИВ γ -Fe₂O₃-ВМІСНИХ НАНОЧАСТИНОК НА КЛІТИНИ КРОВІ ССАВЦІВ

Т.І. Думич¹, С.Я. Парижак¹, О.Ю. Ключівська²

¹ Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів;

² Інститут біології клітини НАН України, Львів.

tetiana.dumych@gmail.com

Вступ. З кожним роком зростає роль нанотехнологій, які використовуються в промисловості, енергетичній галузі, інформаційних технологіях, медицині та інших галузях. Малі розміри дозволяють наночастинкам потрапляти в системний кровообіг, швидко розподілятися по всьому тілу, долати біологічні бар'єри. Клітини крові є першим контактом для наночастинок, які потрапляють в організм. Вивчення взаємодії клітин з наночастинками є критичним для розробки ефективних систем доставки лікарських засобів, адже введення чужорідного матеріалу може викликати низку несприятливих ефектів. Метою нашої роботи було дослідити вплив γ -Fe₂O₃ наночастинок на клітини крові, зокрема, еритроцити та нейтрофільні гранулоцити *in vitro* та *in vivo*.

Матеріали і методи. Вплив нанокompозитів на еритроцити крові оцінювали за допомогою методу спектрофотометричного вимірювання вивільненого гемоглобіну. Виділення нейтрофільних гранулоцитів із гепаринізованої крові здійснювали, використовуючи центрифугування у градієнті густини фікол-тріомбразу із подальшим лізуванням еритроцитів. Токсичний вплив нанокompозитів *in vivo* оцінювали після їхнього внутрішньовенного введення лабораторним тваринам. Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до рішення біоетичної комісії ІБК НАНУ.

Результати. У роботі було використано три групи наночастинок (НЧ) розміром близько 15 нм. Перша група – γ -Fe₂O₃ НЧ (НЧ I), друга – γ -Fe₂O₃ НЧ покриті оболонкою неорганічної природи на основі силікату (НЧ II) і третя група – залізозмісні НЧ, покриті органічною оболонкою (НЧ III). За допомогою спектрофотометричного вимірювання вивільненого гемоглобіну нами встановлено, що усі три групи НЧ не викликають пошкоджень еритроцитів. Інкубування НЧ з ізольованими нейтрофілами призводило до незначної активації гранулоцитів з утворенням нейтрофільних позаклітинних пасток. Покриття γ -Fe₂O₃ НЧ оболонками органічної та неорганічної природи зменшувало даний ефект. Крім того, внутрішньовенне введення лабораторним тваринам не показало загального токсичного впливу НЧ на їхній організм.

Висновки. Досліджені нанокompозити є безпечними для внутрішньовенного введення. Наявність специфічного покриття дає можливість кон'югації НЧ з іншими речовинами для таргетної доставки останніх. Дослідження властивостей даних наноматеріалів продовжується.

Подяка: член-кор. НАН України Р.С. Стойці (Інститут біології клітини НАН України) за керівництво даними дослідженнями та доктору Daniel Horák (Institute of Macromolecular Chemistry, Academy of Sciences, Czech Republic) за розробку наноматеріалів і надання їх для цього дослідження.

АНАЛІЗ ВМІСТУ КОЛАГЕНУ У ЗРАЗКАХ ВІДХОДІВ ШКІРЯНОГО ВИРОБНИЦТВА ПІСЛЯ ХОЛОДНОЇ СТЕРИЛІЗАЦІЇ

О.О. Калініченко, О.А. Шидловська

Київський національний університет технологій та дизайну, Київ

kalinichenko742135@gmail.com

Вступ. Ушкодження шкірних покривів можуть бути наслідком механічних побутових пошкоджень, спортивних травм, розвиватися внаслідок хвороб, таких як діабет. Оскільки травмування шкірних покривів постійно супроводжує життєдіяльність людини, то актуальним питанням є пошук нових підходів до терапії ранових поверхонь. Перспективним є використання мазей, гелей та пов'язок на колагеновій основі. Джерелом його отримання можуть виступати відходи шкіряного виробництва, оскільки в них достатня кількість колагену першого, третього і п'ятого типів. Важливим є підбір ефективного методу стерилізації без втрат білку. Мета даної роботи — аналіз кількості колагену отриманого від відходів шкіряного виробництва після холодної стерилізації.

Матеріали та методи. В роботі застосовано метод холодної стерилізації з використанням фільтрів з розмірами пор 0,45 мкм та 0,22 мкм. Концентрацію загального білку визначали за методом Бредфорда. Як контроль використовували дистильовану воду з реактивом Бредфорда (Coomassie Brilliant Blue G-250). Визначення оптичної густини зразків проводили на спектрофотометрі ULab 102 UV при довжині хвилі 595 нм. Калібрувальну криву будували з використанням градієнту концентрацій бичачого сироваткового альбуміну БСА (New England Biolabs, 0-50 мкг/мкл).

Результати. Встановлено, що у вихідних зразках колагену, отриманого від різних партій відходів шкіряного виробництва концентрація колагену складає 18,64 [18,59; 18,68] мкг/мл, 25,26 [25,24; 25,28] мкг/мл та 23,19 [23,12; 23,26] мкг/мл. Загальний вміст білка у зразках становить 1,44 [1,39; 1,48] мкг/мл. Після двоступеневої фільтрації встановлено, що концентрація колагенового білка у зразках складає 20,53 [20,49; 20,58] мкг/мл, 22,33 [22,20; 22,47] мкг/мл та 20,80 [20,71; 20,89] мкг/мл відповідно. Загальна концентрація колагенового білка після стерилізації становить 1,41 [1,40; 1,42] мкг/мл.

Отримані дані вказують на те, що вихідний розчин містить достатньо високі рівні білка. Показано, що після холодної стерилізації відбувається втрата колагенового білка у значенні 0,04 [-0,01; 0,06] мкг/мл, що відповідає 2,46 [-0,87; 3,72] %. Втрати колагенового білка знаходяться у допустимих межах в діапазоні до 10 %.

Висновки. В даній роботі показано, що метод холодної стерилізації може бути використаний для стерилізації колагенового білку, отриманого від відходів шкіряного виробництва методом кислотного осадження.

Подяка. Доценту кафедри біотехнології, шкіри та хутра Київського національного університету технологій та дизайну Юнгін О.С.

АКТИВУВАННЯ КРИПТИЧНИХ КЛАСТЕРІВ ГЕНІВ БІОСИНТЕЗУ ВТОРИННИХ МЕТАБОЛІТІВ У *STREPTOMYCES SP. Pv 4-95*

А.І. Качор¹, С.І. Тістечок¹, М. Стірхоф²

¹Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, Україна;

²Університет Саарланду, Саарбрюкен, Німеччина.

anua.aiva18@gmail.com

Вступ. Актиноміцети є одними з основних продуцентів біологічно активних сполук, більшість з яких застосовують у медицині. Відкриття нових антибіотичних сполук та конструювання надпродуцентів є важливими у біотехнологічних дослідженнях, особливо у виробництві клінічно важливих антибіотиків. Здатність актиноміцетів продукувати біологічно активні сполуки є недооціненою через наявність у геномах цих бактерій криптичних кластерів генів біосинтезу, що не експресуються та імовірно можуть продукувати нові вторинні метаболіти. Активування експресії таких генних кластерів може призвести до виявлення нових біологічно активних сполук. З огляду на це метою нашої роботи було активування криптичних кластерів генів біосинтезу вторинних метаболітів у штамі *Streptomyces sp. Pv 4-95* з використанням гетерологічного плейотропного гена-регулятора транскрипції *adpA_{gn}*.

Матеріали і методи. Ген *adpA_{gn}* у складі рекомбінантної плазмиди *pTESadpA_{gn}* інтегрували в хромосому *Streptomyces sp. Pv 4-95* за допомогою міжродового кон'югаційного схрещування зі штамом *Escherichia coli* WM6026. Вторинні метаболіти з культуральної рідини і біомаси штаму *Pv 4-95* і транскон'юганта *Pv 4-95FL* екстраговано з використанням етилацетату та суміші ацетон-метанол, відповідно. Екстракти розчиняли у метанолі та аналізували за допомогою високо-ефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) в комбінації з мас-спектрометричною системою LTQ XL Orbitrap. Для визначення структури очищених сполук використано ЯМР (ядерний магнітний резонанс).

Результати. Отримано транскон'югант *Pv 4-95FL*, що містить інтегративну плазмиду *pTESadpA_{gn}* з геном *adpA_{gn}*. Штам *Pv 4-95FL* виявив антибіотичну активність проти *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, при тому що вихідна культура *Pv 4-95* такої активності не виявляла. За допомогою ВЕРХ в екстракті штаму *Pv 4-95FL* виявлено два нові піки, які відсутні в екстракті вихідної культури. Порівняльний аналіз точних мас цих піків, спектрів поглинання, джерела виділення та інших параметрів з базою даних природних сполук «Dictionary of Natural Products, CRC Pres» не виявив співпадіння з уже описаними природними сполуками. Сполуки, що утворюють ці піки в екстракті штаму *Pv 4-95FL* були очищені та проаналізовані за допомогою ЯМР, в результаті чого було визначено їхні елементарні формули та структури. Основна сполука, яка утворювала перший пік мала масу 209,16373 [M+H]⁺ і була ідентифікована як флавакол. Другий пік утворений масою 225,15903 [M+H]⁺, яка була ідентифікована як нове гідроксипохідне флаваколу (6-(2-метилпропіл)-3-(2-гідрокси-2-метилпропіл)-2(1H)-піразинон).

Висновки. Експресія плейотропного регуляторного гена *adpA* у штамі *Streptomyces sp. Pv 4-95* призвела до активації криптичних кластерів генів біосинтезу флаваколу та його нового гідроксипохідного (6-(2-метилпропіл)-3-(2-гідрокси-2-метилпропіл)-2(1H)-піразинон).

Подяка. Висловлюємо подяку к.б.н., старшому досліднику О.М. Громику, та проф., д.б.н. А.М. Лужецькому за допомогу у плануванні експериментів та інтерпретації результатів.

АНТИБАКТЕРІАЛЬНА ДІЯ ХЛОРАМФЕНІКОЛУ ТА ПОЛІГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНІДИН ГІДРОХЛОРИДУ В СКЛАДІ КОЛАГЕНОВОГО НОСІЯ

С.В. Кудіна, О.А. Шидловська

Київський національний університет технологій та дизайну, Київ.

sofia.kievskaya2015@gmail.com

Вступ. Колаген — перспективний матеріал для розробки антибактеріальних засобів для лікування ранових поверхонь, що забезпечує утворення захисної плівки. Хлорамфенікол — природний антибіотик, що володіє широким спектром дії. Полігексаметиленгуанідин гідрохлорид (ПГМТ) — дезінфектант з фунгіцидною та бактеріоцидною дією. Біологічна дія цих речовин може забезпечити розробку ефективних антибактеріальних колагенових носіїв для лікування ранових поверхонь. Мета роботи — встановити антибактеріальну активність речовин в складі колагенових носіїв проти ряду збудників небезпечних захворювань.

Матеріали та методи. В роботі використовували хлорамфенікол (1 до 4 мг/мл) та ПГМТ (5 нг/мл), тестові культури *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* та клінічний штам *S. aureus* 1377, вирощені на середовищі Nutrient Broth (NB, HiMedia Ltd). В стерильний 96-лунковий планшет вносили композицію колагену з антибактеріальними речовинами, підсушували при температурі 45°C в термостаті СТ-50С (UOSlab®) протягом години, вносили культури. Планшети інкубували при температурі 37°C добу, промивали дистильованою водою, фіксували 0,1 %-вим розчином кристалічного фіолетового, екстрагували фарбник 70 %-им етанолом. Визначали оптичну густину за допомогою плашкового спектрофотометру при довжині хвилі 540 нм.

Результати. При дослідженні антибактеріальної дії хлорамфеніколу проти *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* та *S. aureus* 1377 встановлено затримку росту бактеріальних клітин в діапазоні значень від 96,2 до 99,0 % для всіх досліджуваних культур. Паралельний дослід з визначенням антибактеріальної дії розчинника хлорамфеніколу (етанолу) показав затримку росту клітин 95,1-98,7 %. Отримані результати є недостовірними — неможливо віддиференціювати дію етилену та хлорамфеніколу. ПГМТ має антибактеріальну активність на культурах *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* та *S. aureus* 1377 в значеннях: 67,1 [67,0; 67,2] %, 62,5 [62,5; 62,7] %, 81,6 [81,6; 81,6] % та 87,4 [87,3; 87,4] % затримки росту клітин відповідно.

Висновки. Хлорамфенікол та ПГМТ проявили високу антибактеріальну дію в складі колагенового носія проти *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* та *S. aureus*. Хлорамфенікол має таку саму антибактеріальну активність, як і його розчинник, що потребує додаткових досліджень. ПГМТ проявляє більшу антибактеріальну активність проти *S. aureus*, ніж *E. coli* та *K. pneumoniae*. Отримані дані можуть бути доповнені використанням додаткових концентрацій ПГМТ.

Подяка. Доценту кафедри біотехнології, шкіри та хутра Київського національного університету технологій та дизайну Юнгін О.С.

ВПЛИВ БІОПРЕПАРАТІВ (БІОФОСФОМАГ, ОВА, ОВА+) НА КУЛЬТУРИ Т- і В-ЛІМФОЦИТІВ

О.В. Павлюк, Р.І. Пальонко, В.О. Прис-Каденко, П.М. Федішин, К.О. Калиновська

Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ.

olha.pavlyuk.nubip@gmail.com

Вступ. Визначення механізмів впливу біоактивних препаратів природного походження *in vitro* та на експериментальних моделях займають провідну роль на етапі їх створення в галузі медико-фармакологічних досліджень. Ключовими мішенями у випробуванні біопрепаратів є клітини та органи імунної системи. Вивчення змін імунологічних показників за їхнього впливу на популяції Т- і В-лімфоцитів є важливим для майбутніх клінічних випробувань препаратів як ‘регуляторів’ імунної системи у тварин.

Матеріали і методи. Клітинні лінії: МТ-4 – культура Т-клітинної лейкемії та Namalva – В-клітинна лінія, отримана з лімфоми Беркіта. Біологічно активні новосинтезовані препарати: біофосфомаг (синтезований на основі білка молока казеїну) та ОВА і ОВА+ (отримані екстракцією із рослинної сировини). Дослідження проліферативної активності клітин МТ-4 та Namalva за дії препаратів проводилось з використанням МТТ-тесту (оцінка активності мітохондріальних дегідрогеназ, як маркеру проліферації клітин).

Результати. Проведені дослідження визначили вплив біопрепаратів (біофосфомаг, ОВА та ОВА+) щодо проліферації Т-лімфоцитів. Активація спостерігалась у присутності ОВА+ на 30% відносно контролю (інтактних клітин) і не було виявлено змін у проліферативних показниках Т-лімфоцитів за дії ОВА. Біофосфомаг проявив незначний пригнічувальний ефект на культуру Т-лімфоцитів.

За дії біопрепаратів: біофосфомаг та ОВА+, не спостерігались зміни у проліферативній активності В-лімфоцитів. Показано пригнічення проліферації на ~13% В-лімфоцитів за дії ОВА, тоді як інші сполуки не проявляли відмінної від контролю дії.

Висновки. Вплив біопрепаратів з оригінальним складом на клітинні моделі з фенотипом Т- і В-клітинного імунітету було виявлено різноспрямовану дію біопрепаратів: ОВА+ проявляв активуючий вплив на відміну від ОВА і біофосфомагу на проліферацію Т-лімфоцитів; не було виявлено змін у проліферативних показниках В-лімфоцитів за дії ОВА+ та біофосфомагу у порівнянні з ОВА, який проявляв токсичний ефект. Препарати ОВА, біофосфомаг можуть використовуватись як імуносупресори, а той час ОВА+ як імуностимулятор.

Висловити подяку Л.Г. Калачнюк, Л.В. Гарманчук та О. В. Арнауті - за надані зразки біопрепаратів, обговорення результатів і влучні критичні зауваження, а також можливість використання експериментального обладнання і матеріалів. Дослідження проводяться в рамках науково-дослідної роботи № державної реєстрації 0117U002548, яка фінансується Міністерством освіти і науки України.

ROLE OF UMBILICAL CORD-DERIVED MESENCHYMAL STEM CELLS IN THE RAT MODEL OF ACUTE PANCREATITIS

P. Pikus.^{1,2}, S. Rymar^{1,2}, N. Shuvalova², A. Pustovalov³

¹Institute of Molecular Biology and Genetics of NAS of Ukraine, Kyiv;

²State Institution "Institute of Genetic and Regenerative Medicine of NAMS of Ukraine", Kyiv.

³Educational and Scientific Centre "Institute of Biology and Medicine", Taras Shevchenko National University of Kyiv.

polinaignatchenko7@gmail.com

Introduction. Acute pancreatitis (AP) is serious disorder that requiring emergency hospitalization. After pancreatic tissue necrosis and multiple organ failure in AP, patients have a mortality rate of up to 30-47%. There are currently no effective therapies for AP, MSCs can be a potential candidate for the treatment of this disease due to their immunomodulatory properties. The aim of this study was assessed therapeutic effect of transplanted MSCs in the rat model of AP.

Methods. Wistar rats were randomized into three groups: a negative control group that received normal saline; a positive control group was induced by intraperitoneal injection of L-arginine; and an experimental group was injected intraperitoneally human umbilical cord MSCs second passage ($6-7 \times 10^6$ cells/kg of rat weight) 24 hrs after AP induction. Rats were sacrificed after 7 days, and pancreatic tissues and the blood were collected. Biochemical and histological methods were used to determine the amylase level and pathological changes in the pancreas.

Results. One day after the AP induction, the amylase level increased by 4 times, and histological analysis indicated acute organ damage. The amount of fibrosis area was 8 times higher than the negative control. Equally important morphometric parameter was the presence of a large number of non-nuclear acinar cells and infiltration of inflammatory cells. After 3 days, MSC transplantation led to a significant decrease amylase level in the blood of rats. The amount of fibrosis in the pancreatic parenchyma was decreased and other morphometric parameters of pancreas almost return to normal level.

Discussion. Experimental results indicate that intraperitoneal transplantation of human umbilical cord MSCs leads to almost complete suppression of inflammation.

Conclusions. MSC therapy has the potential to be a novel treatment for AP.

Acknowledgment. V. Kordium^{1,2}.

PURIFICATION OF PROTEIN C ACTIVATOR FROM *CALLOSELASMA RHODOSTOMA* VENOM AND IT'S APPROBATION FOR THE DETERMINATION OF PROTEIN C IN BLOOD PLASMA

A.O. Pitishkina ^{1,2*}, O.M. Platonov ^{1,3}, T.M. Chernyshenko ¹, V.I. Gryshchuk ¹, O.V. Gornytska ¹

¹ Palladin Institute of biochemistry of NAS of Ukraine, Kyiv;

² National Technical University of Ukraine «Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute», Kyiv;

³ ESC “Institute of biology and medicine”, Kyiv.

rosyanista@gmail.com

Introduction. Protein C (PC) is an important physiologic anticoagulant that down-regulates thrombin generation by cleaving and inactivating factor Va and factor VIIIa. This decreases the procoagulant potential of the hemostasis system. Therefore, a decrease PC level in blood plasma is indicative of imbalance in the hemostasis.

The determination of PC level is performing by determining of a specific chromogenic substrate S2366 (Glu-Pro-Arg-pNA) and a specific activator of PC. As follows, the PC content is evaluated by the amount of chromogenic substrate that undergoes hydrolysis per unit time, comparing the parameters of donor blood plasma and the patient blood plasma. The source of specific activators of PC can be snake venom, in particular commercially available activator of PC is derived from the venom of *Agkistrodon contortrix*. The aim of our work is to develop a method of obtaining PC activator from the venom of *Calloselasma rhodostoma* and the evaluation of its use in the laboratory test.

Methods. Crude venom of *C. rhodostoma* was fractionated using chromatography on Blue-Sepharose and Q-sepharose on FPLC Akta Prime. Analysis of fractions was performed using SDS-PAGE. Screening of fractions was performed using chromogenic substrates S2236 in donor blood plasma. Detected fraction was used for the determination of PC level in blood plasma post-COVID-19 patients. Results were compared with those obtained using commercially available test-system Berichrom-Protein C (Siemens, Germany).

Results. A two-step purification protocol for PC activator from *C. rhodostoma* venom was developed. The activator preparation was obtained and its suitability for determining the content of PC level in the blood plasma of patients was tested. It's shown that the obtained values correlate with the values determined by using a standard test system.

Discussion. The process of isolating of PC activator includes two stages of chromatography – on Blue-Sepharose and Q-sepharose, and can be scaled if necessary. The obtained enzyme is characterized by activity close to the brand analogue and can be used in laboratory diagnostics.

Conclusions. Thus, PC activator has been identified in the venom of *C. rhodostoma*. Method of two-step purification of PC activator was developed as well. The obtained enzyme can be used to determine the content of PC level in the blood plasma and can be used as a component of test-system for the routine laboratory practice.

Acknowledgement. The authors are grateful to Chernyshenko V.O. and Platonova T. M. for their help in conducting research and processing the results.

GENE DELIVERY TO MAMMALIAN CELLS BY NOVEL CATIONIC POLY-DMAEMA CARRIER

N.S. Finiuk¹, O.L. Paiuk², K.I. Volianiuk²

¹*Institute of Cell Biology, National Academy of Sciences of Ukraine, Lviv;*

²*Lviv National Polytechnic University, Lviv.*

nataliyafiniuk@gmail.com

Introduction. Materials for gene transfer, in particular for DNA and siRNA delivery into cells, are currently one of the most relevant issues in the pharmacological market. The aim of present work was to investigate the biocompatibility of 83/5c (poly(2-dimethylaminoethyl methacrylate (DMAEMA)- *block*- N-vinylpyrrolidone- *co*- butyl acrylate- *co*- aminoethyl methacrylate) polymer, as well as the efficiency of gene delivery by this polymeric carrier into the mammalian cells.

Methods. The DNA electrophoresis was used to investigate binding of the polymer with plasmid DNA. The efficiency of transfection by the pEGFPc-1 plasmid complexed with the 83/5c/ polymer was evaluated in human cells (embryonic kidney HEK293 cells, breast carcinoma MCF-7 cells, cervical cancer HeLa cells, hepatocarcinoma HepG2 cells, glioblastoma U251 cells, colon carcinoma HCT116 cells, lung carcinoma A549 cells) by using fluorescent microscopy. Cytotoxicity of 83/5c carrier was evaluated by the MTT assay, and the DNA damaging effect of the polymer was determined by DNA comet analysis in the alkaline conditions and diphenylamine DNA fragmentation assay.

Results. The 83/5c carrier at 0.03% bound with plasmid DNA. The 83/5c/pEGFPc-1 complexes exhibited different transfection efficiency (5.9-57.9%) of mammalian cells. That efficiency was similar to defined at using 83/5c polymer using polyethyleneimine (PEI) which is a traditional transfection carrier. The viability of mammalian cells under the action of 83/5c polymer was 95.7-84.7%. While the viability of mammalian cells under the action of PEI was 70.0-67.1%. The poly-DMAEMA carriers caused less DNA damage (single-strand breaks and DNA fragmentation) in the transfected mammalian cells.

Discussion. The 83/5c carrier was as effective in transfection of the mammalian cells as PEI or better the PEI.

Conclusions. The 83/5c carrier electrostatically interacted with plasmid DNA. The 83/5c carrier was effective in transfection of the mammalian cells. A cytotoxic effect of 83/5c carrier was significantly lower than that of PEI. Thus, poly-DMAEMA 83/5c carrier is promising vector for gene delivery into mammalian cells.

Acknowledgement. Authors thank sincerely Dr. O. Zaichenko and Dr. N. Mitina (Lviv National Polytechnic University) for synthesis of the polymeric carriers. Prof. R. Stoika (Institute of Cell Biology, NAS of Ukraine, Lviv, Ukraine) is acknowledged for scientific advises. The research was supported by the Research Grant of the National Academy of Sciences of Ukraine to research laboratories/groups of young scientists of the National Academy of Sciences of Ukraine (# 0120U100197, 2020–2021).

II. Біохімія

ВПЛИВ АТР НА ВМІСТ КАРДІОЛІПІНУ ТА КОНЦЕНТРАЦІЮ ІОНІЗОВАНОГО КАЛЬЦІЮ У МІТОХОНДРІЯХ МІОМЕТРІЯ

А.О. Бавельська^{1,2}

¹ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Київ; ²Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Київ.

anastasia5380.b@gmail.com

Вступ. Однією з основних систем, що задіяні у регуляцію внутрішньоклітинного Ca^{2+} -гомеостазу та забезпечують можливість зміни концентрації цього катіону в часі та просторі, є мітохондрії. Відомо, що внутрішня мембрана мітохондрій містить особливий фосфоліпід – кардіоліпін, який взаємодіє з великою кількістю інтегральних мембранних білків, контролюючи таким чином їх функції. Пошук сполук, що здатні регулювати обмін та концентрацію Ca^{2+} у матриксі мітохондрій, є важливим завданням сьогодення.

Метою роботи було оцінити вміст кардіоліпину у мітохондріях міометрія матки щурів за дії АТР, екзогенно доданої у середовище інкубації, а також концентрацію іонізованого кальцію у матриксі та у середовищі інкубації.

Матеріали та методи. Експерименти проводили на мітохондріальній фракції міометрія матки щурів. Методом спектрофлуориметрії дослідили вплив АТР на концентрацію іонізованого кальцію у матриксі мітохондрій (флуоресцентний Ca^{2+} -чутливий зонд Fluo 4AM) та на інтенсивність виходу цього катіону до інкубаційного середовища (флуоресцентний Ca^{2+} -чутливий зонд Fluo-4, Pentapotassium Salt). За інтенсивністю флуоресценції мітохондрій, навантажених 100 нМ acridine orange 10-nonyl bromide, методом проточної цитофлуориметрії визначили вміст кардіоліпину у мембранах цих органел за інкубації у присутності та відсутності АТР.

Результати. Встановлено збільшення концентрації іонізованого кальцію у матриксі мітохондрій залежно від концентрації АТР у середовищі інкубації за умови відсутності екзогенно доданого Ca^{2+} . Розраховано значення коефіцієнта Гілла, яке становить $3,18 \pm 0,28$, та константу активації за АТР, що дорівнює $0,98 \pm 0,07$ мМ. Показано, що за інкубації мітохондрій у Mg^{2+} , АТР-умісному середовищі концентрація іонізованого кальцію в даному середовищі значно перевищує таку у Mg^{2+} -умісному середовищі. З'ясовано, що мітохондріальна пора не залучена у зростання вмісту Ca^{2+} у середовищі інкубації, оскільки блокування цієї пори циклоспорином А не усуває збільшення концентрації іонізованого кальцію у Mg^{2+} , АТР-умісному середовищі інкубації. Виявлено, що інкубація мітохондрій у Mg^{2+} , АТР-умісному середовищі веде до зменшення вмісту кардіоліпину у мембранах цих органел, отже, ріст концентрації іонів Ca^{2+} у матриксі мітохондрій супроводжується зниженням вмісту кардіоліпину у їх внутрішній мембрані.

Висновки. Показано, що за інкубації мітохондрій у присутності АТР концентрація іонізованого кальцію у матриксі зростає, збільшується вихід цього катіона до середовища інкубації, але без залучення до цього процесу мітохондріальної пори, та зменшується вміст кардіоліпину у мембранах мітохондрій.

Подяка. Висловлюю величезну вдячність співробітникам відділу біохімії м'язів Інституту біохімії ім.О.В.Палладіна НАН України Шликову С.Г. та Бабіч Л.Г. за допомогу у постановці та проведенні експериментів, та критичні зауваження.

NANOCOMPLEX OF BERBERINE WITH C₆₀ FULLERENE EFFECTIVELY DECREASES PROLIFERATION, MOTILITY, AND METASTASIS OF LUNG CANCER CELLS

M. I. Bekala¹, V. J. Markhaychuk¹, I. R. Horak², I. P. Krysiuk², T. D. Skaterna², A. G. Grebinyk³, O. O. Gudkova², N. V. Latyshko², T. O. Kishko², O. O. Hrabovskyi², S. V. Prylutska¹

¹ Taras Shevchenko National University, Kyiv;

² Palladin Institute of Biochemistry of NAS of Ukraine, Kyiv;

³ Technical University of Applied Sciences Wildau, Wildau, Germany.

E-mail: iryna.horak@gmail.com

Introduction. Natural alkaloid berberine is a perspective anticancer agent because of its pro-apoptotic and antimetastatic effects. However, berberine has high cytotoxicity and poor solubility in water, so there is a strong need to develop new approaches to overcome the side effects. The aim of this study was to compare the effects of free berberine (Ber) and its nanocomplex with fullerene C₆₀ (C₆₀-Ber 2:1) on the malignant properties of lung cancer cells *in vitro* and *in vivo*.

Methods. Mouse lung carcinoma LLC cells were cultured under standard conditions. Proliferation of LLC cells was estimated by MTT-assay, motility – by *in vitro* scratch test, and invasiveness – by Transwell assay. Tumor growth dynamics and metastasis were analyzed using *in vivo* spontaneous metastasis model. Gene expression levels were evaluated by real-time PCR.

Results. It was found that Ber suppressed proliferation of LLC cells at concentrations 10 μM and higher, while nanocomplex C₆₀-Ber 2:1 had significant effect already at 1,3 μM of Ber. Treatment of LLC cells with 10 μM Ber resulted in decreased motility and invasiveness, whereas C₆₀-Ber 2:1 had more powerful effects. Analysis of epithelial-mesenchymal transition (EMT) and cancer stem cells (CSCs) gene expression patterns revealed that both Ber and C₆₀-Ber 2:1 treatment resulted in decreased expression of *Zeb1*, *Twist1*, *Sh3kbp1*, and *CD44*, but C₆₀-Ber 2:1 application led to significant decrease in the expression of *Zeb1*, *Snail*, and *CD44* compared to Ber. Free Ber (7,5 mg/kg) did not influence tumor growth and metastasis *in vivo*, but treatment with C₆₀-Ber 2:1 led to the retardation in tumor growth dynamics, significantly decreased tumor weight (by two times), tumor and lung weight indexes (by two and 1,5 times, respectively), and metastases number (by 2,5 times).

Discussion. C₆₀-Ber 2:1 nanocomplex suppressed malignant properties of LLC cells more effectively than free Ber both *in vitro* and *in vivo*. In addition, application of this nanocomplex decreased the expression of EMT and CSCs molecular markers.

Conclusion. Complexation of berberine with C₆₀ fullerene potently increased its anticancer effects.

Acknowledgements. Sincere gratitude to Prof. Liudmyla Drobot, Prof. Yuriy Prylutsky, and Prof. Olga Matyshevska for their guidance and comprehensive support.

This study was financially supported by the National Research Foundation of Ukraine (NRFU) grant (Competition "Leading and Young Scientists Research Support").

КАЛІКС[4]АРЕН С-956 ЯК НОВИЙ НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИЙ СЕЛЕКТИВНИЙ ІНГІБІТОР КАЛЬЦІЄВОЇ ПОМПИ ПЛАЗМАТИЧНОЇ МЕМБРАНИ ТА МОДУЛЯТОР КОНЦЕНТРАЦІЇ Ca^{2+} У ГЛАДЕНЬКОМ'ЯЗОВИХ КЛІТИНАХ

О.В. Гольден¹

¹*Інститут біохімії ім. О.В.Палладіна НАН України, Київ.*

0995514646@ukr.net

Вступ. Mg^{2+} , АТР-залежна Ca^{2+} -помпа плазматичної мембрани (ПМ) транспортує Ca^{2+} з цитоплазми у позаклітинний простір та контролює локальні Ca^{2+} -сигнали у внутрішньоклітинних мембранних мікродоменах. Проте специфічний низькомолекулярний інгібітор Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази відсутній. Раніше нами було продемонстровано, що калікс[4]арен С-90 претендує на роль селективного інгібітора Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази ПМ ($I_{0,5} = 20$ мкМ). Втім, дослідивши дію на кальцієву помпу ПМ низки калікс[4]аренів - структурних аналогів калікс[4]арену С-90, ми з'ясували, що найбільшу інгібіторну дію з них має калікс[4]арен С-956. Отже, **метою** цієї роботи було дослідження закономірностей дії низькомолекулярного інгібітора Mg^{2+} , АТР-залежної кальцієвої помпи ПМ калікс[4]арену С-956 на гомеостаз іонів Са у міоцитах матки.

Матеріали і методи. Активність Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази визначалася із використанням препарату ПМ міометрія свині методом визначення P_i , утвореного в результаті гідролізу АТР. Вплив калікс[4]арену на концентрацію цитоплазматичного Ca^{2+} визначали за допомогою лазерного скануючого конфокального мікроскопа (зонд fluo-4 АМ). Ефективний гідродинамічний діаметр (ГДД) гладеньком'язових клітин (ГМК) визначали із застосуванням лазерно-кореляційного спектрометра (ЛКС). Були використані методи біохімічної кінетики.

Результати. Калікс[4]арен С-956 знижує максимальну флуоресценцію зонду АНС, майже не впливаючи на його взаємодію з везикулами ПМ, що вказує на його вбудовування у поверхневий шар мембрани. Ми встановили, що калікс[4]арен С-956 (100 мкМ) ефективно ($I_{0,5} = 15$ мкМ) пригнічує Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази активність ПМ клітин міометрія до рівня $20,8 \pm 0,4$ % відносно контрольного значення ($M \pm m$; $n = 5$). У той же час ця сполука майже не впливала на активність Na^+ , K^+ -АТРази, Mg^{2+} -АТРази і Ca^{2+} -АТРази ПМ. За допомогою конфокальної мікроскопії продемонстровано, що калікс[4]арен С-956 (20 мкМ) викликає зростання внутрішньоклітинної $[\text{Ca}^{2+}]$, яка з часом знижується до базального рівня. Також С-956 (50 мкМ), подібно до утеротоніку окситоцину (100 нМ), призводить до зменшення ефективного ГДД ГМК, виміряного за допомогою ЛКС, до 45 % відносно контролю, що свідчить про зміни водно-осмотичного балансу ГМК. Результати щодо інгібуючої дії калікс[4]арену С-956 на активність кальцієвої помпи ПМ були підтверджені у дослідях із вивчення механокінетики ГМ із використанням методу багатопараметричного аналізу скоротливої відповіді.

Висновки. Калікс[4]арен С-956 пригнічує активність транспортної Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТРази ПМ, до якої має високий афінитет. Ця сполука індукує підвищення концентрації Ca^{2+} в міоцитах матки, загальмовуючи релаксацію механічної напруги.

Подяка. Автор висловлює вдячність к.б.н. Векліч Т.О. за обговорення результатів дослідів та творчі дискусії.

ADAPTOR PROTEIN RUK/CIN85 AS A POTENT INDUCER OF THE WARBURG EFFECT IN BREAST CANCER CELLS

I. R. Horak¹, O. O. Gudkova¹, N. V. Latyshko¹, T. O. Kishko¹, M. O. Shkoda², M. R. Kyrychenko², R. S. Korshun²

¹ Palladin Institute of Biochemistry of NAS of Ukraine, Kyiv;

² Taras Shevchenko National University, Kyiv.

iryna.horak@gmail.com

Introduction. Cancer cells modify their metabolism in order to obtain energy, to combat hypoxia and oxidative stress etc., but molecular mechanisms and drivers of such changes are still insufficiently studied. The aim of this study was to analyze metabolic parameters in breast cancer cells dependent on the expression levels of adaptor protein Ruk/CIN85.

Methods. Mouse breast adenocarcinoma 4T1 cells with Ruk/CIN85 overexpression (RukUp cells) or downregulation (RukDown cells) were cultured under standard conditions. Enzyme activities and metabolites content were evaluated fluorometrically and spectrophotometrically. Genes expression levels were estimated by real-time PCR.

Results. It was demonstrated that *Glut1* expression in RukUp cells was elevated by 3,2 times compared to control. Analysis of glycolytic enzymes revealed that RukUp cells significantly overexpressed *Aldoa* and *Ldha* (by 2,2 and 1,7 times, respectively) together with increased activity of LDHA (by 1,6 times) and lactate content (by 1,8 times). Also, we found that expression of *Pkm* and *Hkl* were decreased in RukUp cells. In RukDown cells *AldoA* expression was halved, and no significant differences were found in other parameters. Additionally, activity of G6PDH was increased by 1,6 times in RukUp cells. It was found that TCA cycle enzymes expression and activities were increased significantly in RukDown cells: *Mdh2* expression was increased by 7,8 times, activities of IDH3 and MDH2 were increased by 1,6 times each. In RukUp cells these parameters were decreased significantly. Finally, it was shown that RukUp cells are characterized by decreased content of NAD coenzyme and by reduction of NAD⁺/NADH ratio.

Discussion. The obtained results indicate that Ruk/CIN85-overexpressing breast cancer cells intensively absorb glucose and metabolize it predominantly by glycolytic pathway, while Ruk/CIN85-downregulated cells oxidize glucose in TCA cycle like differentiated cells. NAD⁺/NADH ratio plays an important role in the maintaining proliferation, survival, and invasion of cancer cells, and NAD⁺ deficiency may lead to the dysfunction in DNA repair and ROS defense thereby promoting tumor development.

Conclusions. High levels of Ruk/CIN85 expression in cancer cells may be associated with potentiation of Warburg effect.

Acknowledgements. Sincere gratitude to Prof. Liudmyla Drobot for guidance and comprehensive support.

This study was financially supported by the National Research Foundation of Ukraine (NRFU) grant (Competition "Leading and Young Scientists Research Support").

ЗМІНИ ПРОЦЕСІВ ГЛУТАМАТ- ТА ГАМКЕРГІЧНОЇ НЕЙРОТРАНСМІСІЇ ЗА УМОВ ЗАБРУДНЕННЯ ПОВІТРЯ ТВЕРДИМИ ЧАСТИНКАМИ ДИМУ ПРИ ЗГОРЯННІ ПЛАСТИКУ

Л.М. Калиновська¹, К.О. Палієнко¹, В.О. Устименко², М.В. Дударенко¹

¹Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, м. Київ,

²Національний університет «Києво-Могилянська академія, м. Київ

e-mail: kalina-kalina1025@ukr.net

Вступ. Виробництво пластмаси в сучасному світі постійно зростає, однак відсутність безпечних методів утилізації призводить до значного її накопичення в навколишньому середовищі. Стихійне загорання пластикових відходів, а також використання його в якості палива в країнах третього світу несе потенційну загрозу для навколишнього середовища і здоров'я населення. Тверді частинки диму поширюються по всьому світу і є основним джерелом чорного вуглецю в забрудненні повітря, яке дуже стійке до деградації. Викиди компонентів палаючої пластмаси збільшують ризик серцевих захворювань, погіршують стан хворих з респіраторними захворюваннями (астма та емфізема) і викликають ураження нервової системи, нудоту та головні болі. Метою роботи є дослідити нейротоксичні властивості синтезованих в лабораторних умовах зразків аерозолі з пластикового диму на водній основі (WSP) на пресинаптичних нервових закінченнях кори головного мозку шурів (синапсосомах).

Матеріали і методи. В дослідженні використовувалися щури-самці лінії Wistar (масою тіла 100-120 г). Нервові закінчення головного мозку щура (синапсосоми) виділяли за методом Котмана. Поглинання / вивільнення [³H]ГАМК і L-[¹⁴C]глутамату нервовими закінченнями визначали за допомогою радіоізотопних методів. Дослідження мембранного потенціалу проводилося з використанням потенціометричного зонду родаміну 6G. Оцінку метаболічної активності синапсосом проводили із застосуванням препарату Presto Blue.

Результати. З використанням потенціал чутливого флуоресцентного зонду родаміну 6G було виявлено зменшення мембранного потенціалу ізольованих нервових закінчень за присутності WSP. Додавання WSP до синапсосом призводило до пригнічення їх метаболічної активності. Також, показано зміни накопичення збудливого та гальмівного нейромедіаторів L-[¹⁴C]глутамату та [³H]ГАМК, зниження позаклітинного рівня [³H]ГАМК та порушення процесу екзоцитозу за дії WSP.

Висновки. Продемонстровано нейротоксичні властивості WPS спричинені зменшенням мембранного потенціалу, зниженням метаболічної активності синапсосом та зміною основних характеристик L-глутамат/ГАМКергічної нейротрансмісії, що може призводити до порушення балансу збудливої та гальмівної нейромедіації, та спричинити розвиток нейропатологій.

Подяка. Борисов А.А., Крисанова Н.В., Познякова Н.Г., Пастухов А.О., Борисова Т.О.

НОКДАУН АДАПТЕРНОГО ПРОТЕЇНУ Ruk/CIN85 В КЛІТИНАХ КАРЦИНОМИ ЛЕГЕНІ ЛЬЮЇС ПРИЗВОДИТЬ ДО МЕТАБОЛІЧНОГО РЕПРОГРАМУВАННЯ, АСОЦІЙОВАНОГО ЗІ ЗНИЖЕННЯМ АГРЕСИВНОСТІ ЇХ ФЕНОТИПУ

Р.С. Коршун^{1,2}, О.О. Гудкова¹, Т.Д. Скатерна¹, І.Р. Горак¹, Н.В. Латишко¹

¹*Інститут біохімії ім. О.В.Палладіна НАН України, Київ*

²*Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, Київ*

korshun1709@gmail.com

Вступ. Для ракових клітин характерними є перебудови їх метаболізму, відомі як ефект Варбурга, що включають окисно-відновні процеси, гліколіз, біоенергетику, синтез поліамінів та інші. Таке метаболічне репрограмування разом з мікрооточенням клітин відіграє важливу роль у прогресуванні онкологічного процесу. Наші попередні дані продемонстрували взаємозв'язок між малігнізацією пухлинних клітин та високими рівнями експресії адаптерного/риштувального протеїну Ruk/CIN85. Метою цього дослідження було встановити взаємозв'язок між зниженням рівня експресії Ruk/CIN85 у високоінвазивних клітинах карциноми легені Льюїс (LLC) миші і метаболічними змінами, пов'язаними з ефектом Варбурга та станом позаклітинного матриксу (ПКМ).

Матеріали та методи. Клітини LLC зі стабільним down-регулюванням Ruk/CIN85 (сублінія LLC B1) та відповідні їм контрольні клітини Scg культивували за стандартних умов. В цитоплазматичних екстрактах визначали вміст H₂O₂, а також активності лактатдегідрогенази (LDH), семікарбазидочутливої амінооксидази (SSAO), діамінооксидази (DAO) та поліамінооксидази (PAO). Натомість, вміст лактату та активність лізілоксидази (LOX) визначали в кондиційованому середовищі вирощування клітин.

Результати. Продемонстровано зниження рівня активності LDH та вмісту лактату, основних маркерів аеробного гліколізу, в клітинах LLC B1 порівняно з цими значеннями в клітинах LLC Scg у 2 та 1,5 рази, відповідно. В клітинах LLC з down-регулюванням Ruk/CIN85 спостерігалось також зниження у 2 рази рівня активності DAO, ензиму, що катаболізує поліаміни, та в 3 рази рівнів активностей LOX та SSAO, залучених до контролю структурного та функціонального стану ПКМ. Відповідно до цих змін в клітинах LLC B1 виявлено зниження в 1,8 разів вмісту головного чинника оксидативного стресу H₂O₂, одного з продуктів реакцій, що каталізують всі досліджені амінооксидази.

Висновки. Отримані дані свідчать, що down-регулювання Ruk/CIN85 в клітинах LLC призводить до суттєвого пригнічення всіх досліджених метаболічних шляхів: гліколізу, редокс гомеостазу, катаболізму поліамінів, ланок, залучених до формування структури ПКМ. Такі зміни у метаболізмі ракових клітин вказують на зниження ступеня їх злоякісності.

Подяка. Автори висловлюють вдячність науковому керівнику д.б.н., проф. Дробот Л.Б. за формулювання ідеї дослідження, корисні дискусії та критичну оцінку роботи.

THE MECHANISM OF ANTICOAGULANT ACTION OF THE VENOM OF *BRACHYPELMA SMITHI*

Ye.P. Kucheriavyi ^{1,2*}, V.I. Gryshchuk ¹, A.V. Rebriev ¹, O.M. Platonov ^{1,2}, K.S. Savchenko ^{1,2}

¹ Palladin Institute of biochemistry of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine;

² ESC "Institute of biology and medicine", Kyiv, Ukraine.

biophysicist958@gmail.com

Introduction. Biologically active substances that affect the hemostasis system can potentially be used as new pharmaceutical agents as well as an effective tool for basic research. In particular, the proteases of animal venom with specificity for fibrinogen can be used in the study of the molecular mechanisms of polymerization of fibrin, and they can be useful for reducing the risk of thrombosis in pathological processes. The aim of this study was to investigate the mechanism of anticoagulant action of the venom of the arachnid *Brachypelma smithi*.

Methods. Fractionation of *Brachypelma smithi* venom was performed by ion-exchange chromatography on Q-sepharose using FPLC Akta Prime. Proteins were identified using SDS-PAGE and MALDI-TOF analysis. For the determination of proteolytic targets of enzyme the western-blot analysis was used with monoclonal antibody II-5C specific to N-terminus of fibrinogen A α -chain. Proteolytic activity was studied using specific amide chromogenic substrates. Hemolytic activity was studied on human erythrocytes, the effect on endothelial cells was investigated using MAEC cell culture.

Results. We developed a method of two-stage chromatographic purification of protease specific to A α - and B β -chains of fibrinogen. According to MALDI-TOF analysis the enzyme had molecular mass 28,920 kDa. It has been shown that the enzyme has an optimum activity at neutral pH values and at temperatures above 20 °C, effectively hydrolyzing chromogenic substrates with arginine at the S1-site. Inhibitory analysis allowed identifying the enzyme as metalloproteinase. It is shown that in the initial stages of proteolysis, the enzyme cleaves from fibrinogen a polypeptide having a molecular weight of about 15 kDa, forming a partially hydrolyzed form of fibrinogen, devoid of C-terminal portions of A α chains - fibrinogen-310. It was found that the obtained proteinase does not affect platelets at resting state, does not cause hemolysis of red blood cells, but significantly inhibits the growth of endothelial cell culture.

Discussion. Limited proteolysis of fibrinogen with the use of proteinase allowed us to obtain partly hydrolyzed form of fibrinogen - fibrinogen-310 with cleaved C-terminal portions of A α -chains. This form of fibrinogen had less ability to form a fibrin clot due to the impairment of the process of protofibril formation.

Conclusions. The anticoagulant effect of *Brachypelma smithi* venom is explained by the presence of a proteinase that is able to specifically hydrolyze fibrinogen and act directly on endothelial cells, inhibiting their ability to form a monolayer.

Acknowledgement. The authors are grateful to Chernyshenko V.O. for his help in conducting research and processing the results.

INVESTIGATION OF MITOCHONDRIAL NO SYNTHASE AND ITS ASSOCIATION WITH CAMP-DEPENDENT PATHWAY

A.Y. Puhach¹, V.T. Hurska¹, A.V. Saichuk¹

¹*Palladin Institute of biochemistry of NAS of Ukraine, Kyiv/*

alisapugach2011@gmail.com

Introduction. Nitric oxide is a free radical compound, which is naturally produced in human organism and plays an important role in numerous cellular processes. In addition, it has been found that NO plays an important role in regulation of various signaling pathways in mitochondria. The NO is known to be synthesized by an enzyme NO-synthase (NOS) in cellular cytoplasm. However, due to the importance of NO in regulation of mitochondrial function it has been questioned whether the NO synthesis can take place in mitochondria and, if so, is it similar to cytoplasmic synthesis. The aim of this study was to investigate the NO synthesis in mitochondria and the dependence of this synthesis on cAMP pathway.

Methods. In order to achieve the aim a variety of methods were used. Firstly, mitochondria were isolated from rat uterine smooth muscle cells. Further, the mitochondria were dyed with an NO-specific fluorescent probe DAF-FM DA. The fluorescence intensity of the probe, which is proportional to the NO concentration, was measured with flow cytometry. In order to study the association of NO synthesis with cAMP cascade in mitochondria a number of modulators were used, such as PKA (protein kinase A) inhibitor – PKI, PKC (protein kinase C) activator – PMA and inhibitor – staurosporine, and sAC (soluble adenylyl cyclase) activator – forskolin and inhibitor – KH7. In addition, indirect sAC activators were used, such as ATP, NaHCO₃ and PDE (phosphodiesterase) inhibitor – caffeine.

Results. It has been found, that NO synthesis takes place in mitochondria and is significantly enhanced by addition of sAC synthetic activator forskolin and natural activator NaHCO₃, as well as by sAC substrate – ATP and PDE inhibitor, which induces a rise in the cAMP concentration by inhibiting its hydrolysis. Moreover, it has been shown, that PKA inhibitor PKI, as well as sAC inhibitor KH7 lead to a decreased NO synthesis. These findings support the idea of cAMP cascade involvement in NO synthesis in mitochondria.

Conclusions. The results of the experiment confirm the presence of NO synthesis in mitochondria of smooth muscle cells and its association with cAMP pathway.

Acknowledgements. The authors thank H.V. Danylovykh and Yu.V. Danylovykh for the planning and full coordination of the experiment.

STUDYING THE EFFECTS OF SNAKE VENOM DISINTEGRINS ON PLATELET AGGREGATION AND TUMOR CELL VIABILITY

O.M. Platonov ^{1, 2*}, R.Yu. Marunych ¹, A.V. Rebriev ¹, M.V. Ryzhykova ¹, K.S. Savchenko ^{1, 2},
V.I. Gryshchuk ¹, L.V. Garmanchuk ²

¹ Palladin Institute of biochemistry of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine;

² ESC "Institute of biology and medicine", Kyiv, Ukraine.

chaosplaton@gmail.com

Introduction. Disintegrins from the snake venom are small polypeptides (4-15 kDa), which contain the RGD sequence motif (Arg-Gly-Asp), recognized by integrins, such as platelet receptor GPIIb/IIIa. Taking into account the presence of GPIIb/IIIa on cancer cells and the important role of integrin receptors in the migration and invasion of cancer cells we focused on the study of platelet aggregation inhibitors from snake venom as antiproliferative agents.

Methods. Venom of *Bitis arietans*, *Echis multisquamatis* and *Calloselasma rhodostoma* were fractionated with FPLC Akta Prime chromatograph using Blue-Sepharose, Q-Sepharose and Superdex G-75. Proteins were indicated using SDS-PAGE according to Laemli and MALDI-TOF mass spectrometry analysis (samples were prepared using HPLC Zorbax C18 SB300). The rate of ADP-induced platelet aggregation was measured using SOLAR AP2110 aggregometer. HeLa cells were cultivated in RPMI with 10 % FBS. Viability of HeLa cells in cell culture was estimated by MTT test using Multiskan EX.

Results. It has been shown that disintegrins from *B. arietans*, *E. multisquamatis* and *C. rhodostoma* venom inhibit ADP-induced platelet aggregation effectively and dose-dependently. The rate of platelet aggregation was decreased twice in the presence of $3.8 \cdot 10^{-6}$ M, $6 \cdot 10^{-6}$ M and $8 \cdot 10^{-6}$ M of disintegrins from *C. rhodostoma*, *E. multisquamatis* and *B. arietans* respectively. Disintegrins from *B. arietans* and *E. multisquamatis* venom taken in concentrations $0.3 \cdot 10^{-6}$ M substantially decreased viability of HeLa cells determined using MTT-test on 20 % and 50 % respectively when compared to control meanings.

Discussion. Fractionating of *C. rhodostoma*, *E. multisquamatis* and *B. arietans* venom we obtained fractions with low-molecular weight polypeptides (13.1, 14.8 and 13.7 kDa respectively) that were able to inhibit platelet aggregation and substantially suppress viability of HeLa cells. As far as both processes are integrin-dependent we explained the inhibitory effects by blocking of integrins both on platelets and on HeLa cells.

Conclusion. Being capable to inhibit cancer cells adhesion and migration selectively obtained compounds can be used as the molecular platforms for the development of antimetastatic medications.

Acknowledgement. The authors are grateful to Chernyshenko V.O. for his help in conducting research and processing the results.

INFLUENCE OF CHILI ON THE PHYSIOLOGY, METABOLISM AND RESPIRATORY ACTIVITY OF MITOCHONDRIA IN *DROSOPHILA*

U.V. Semaniuk, I.S. Yurkevych, O.M. Strilbytska

Vasyl Stefanyk Precarpathian National University, Ivano-Frankivsk.

usemaniuk@gmail.com

Introduction. Capsaicin is the main component of hot chili peppers that affects animal behavior and metabolism. The current study aimed to investigate the effects of chili as a food supplement on lifespan, mobility, resistance to cold and heat, as well as carbohydrate metabolism in females *Drosophila melanogaster*.

Methods. We used *Canton S* [*D. melanogaster* Meigen] female flies that were fed by the experimental food for 15 days. Media were composed of 10% sucrose and 5% dry yeast and supplemented with chili at concentrations: 0.04%; 0.12%; 3%. Heat shock was induced by 42°C, while cold stress was induced by 0°C. Fly climbing ability was assessed using the rapid iterative negative geotaxis technique. Determination of glycogen and glucose content was performed in fly hemolymph and/or body using the diagnostic kit Glucose-Mono-400-P according to the manufacturer's instructions. To assess the effects of chili on mitochondrial respiration, we analyzed respiratory control, ADP/O ratios, and oxygen consumption of mitochondria isolated from control and chili-fed flies. The chili extracts were analyzed using high-performance liquid chromatography (HPLC) with subsequent mass spectrometry to detect the composition of herbal extracts.

Results. Dietary chili extended the lifespan in females at a concentration of 0.12%. However, we detected a toxic effect of 3% chili supplementation to the experimental medium. Consumption of chili We observed that chili significantly improved locomotor activity. Moreover, the chill-coma recovery time was shorter in the chili-consuming groups. Although females were more susceptible to high temperature, however, the recovery time from heat coma was shorter for the chili consuming groups. The hemolymph glucose concentration was lower in females who consumed medium with 0.12% of chili as compared to the control group. The content of glucose in the body and glycogen was not affected by chili supplementation. Our experiments revealed that chili had no significant impact on mitochondrial bioenergetics in fruit flies.

Conclusions. Thus physiological, metabolic traits may be affected by active compounds detected in extracts of chili.

**EXTRACELLULAR VESICLES PRODUCED BY MOUSE BREAST
ADENOCARCINOMA 4T1 CELLS WITH UP- OR DOWN-REGULATION OF ADAPTOR
PROTEIN Ruk/CIN85 MODULATE IN SPECIFIC MODE THE BIOLOGICAL
PROPERTIES OF 4T1 WT CELLS**

A. Yu. Zhyvolozhnyi^{1,2}, M. O. Gomozkova³, I. R. Horak¹

¹*Palladin Institute of Biochemistry of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine;*

²*University of Oulu, Finland*

³*Brigham Young University-Idaho, Rexburg, USA*

ppndl2@gmail.com

Introduction. Small sized extracellular vesicles (sEVs, 40-160 nm in diameter) are secreted by most cell types under both physiological and pathological conditions and were proposed to be actively involved in intercellular communication. In the process of carcinogenesis, they play an important role in tumor initiation, recurrence, metastasis and therapeutic resistance. The mode of sEVs action is dependent on their cargos composition including proteins, DNA, mRNA, microRNA, long noncoding RNA, etc. The aim of this study was to analyse the regulatory effects of sEVs produced by 4T1 cells with overexpression (RukUp) or down-regulation (RukDown) of adaptor protein Ruk/CIN85 on biological properties (proliferation rate, migration and invasion activity) of 4T1 WT cells.

Methods. 4T1 WT, RukUp and RukDown cells were cultured under standard conditions in RPMI-1640 medium at 37°C in CO₂ incubator. sEVs from conditioned medium of 4T1 RukUp or RukDown cells were isolated by differential centrifugation followed by further purification using Exo-spin™ kit (Cell Guidance Systems). The number and size of sEVs were characterized by NTA (Malvern Panalytical NanoSight NM300) instrument. The content of Ruk/CIN85 in isolated sEVs was analysed by Western-blotting. Proliferation rate, migration and invasion activity of 4T1 WT cells under the influence of sEVs were studied using MTT-test, scratch-test and Boyden chamber assay, respectively.

Results and Discussion. In accordance with the results obtained, it was demonstrated for the first time that adaptor protein Ruk/CIN85 is a constitutive component of sEVs produced by mouse breast adenocarcinoma 4T1 cells. It was also shown that sEVs produced by 4T1 cells with different levels of Ruk/CIN85 expression are characterized by specific profiles of the content of its multiple molecular forms. It turned out that the ability of sEVs to modulate the proliferative activity, motility and invasiveness of 4T1 WT cells *in vitro* was tightly correlated with the biological properties of 4T1 cells that produce sEVs (highly aggressive 4T1 RukUp cells or weakly invasive 4T1 RukDown cells).

Conclusions. Adaptor protein Ruk/CIN85 is not only a constitutive component of cargos composition of sEVs produced by tumor cells but in dependence on the level of its content in sEVs it plays an active role in the control of carcinogenesis.

Acknowledgements. Sincere gratitude to Prof. Liudmyla Drobot and Adjunct Professor Anatoliy Samoylenko for guidance and comprehensive support.

II. Біохімічні механізми стійкості організмів до несприятливих умов

MULTIBIOMARKER ASSESSMENT IN *DANIO RERIO* EXPOSURE TO CYANOBACTERIA CRUDE EXTRACTS

O. Horyn, I. Osypenko, N. Kasianchuk, Kh. Nimko, H. Kovalska

Ternopil Volodymyr Hnatyuk National Pedagogical University, Ternopil

horynoi@tnpu.edu.ua

Introduction: Global climate change make the appropriate background for increasing freshwater cyanobacterial blooms. They do affect water reservoirs and pose a high risk to animals and human health in terms of battery of toxic metabolites among them microcystins, saxitoxins, anatoxin-a, and cylindrospermopsin. The aim of the present work was to elucidate the toxicity potentials of Central European cyanobacterial strains of *Aphanizomenon gracile* and *Raphidiopsis raciborskii*. All studied extracts didn't produce cylindrospermopsin or microcystin.

Methods: The toxicity of cyanobacterial extracts was evaluated in zebrafish *Danio rerio* after their exposure for 14 days to tested compound (1% cell-free extracts of *A. gracile* (AMU-DH-1, SAG31.79) and *R. raciborskii* (SAG1.97) strains). Following the exposure, the set of biochemical markers was determined: markers of oxidative stress (catalase (CAT), glutathione (GSH), glutathione-S-transferase (GST), TBA-reactive substances, protein carbonyls (PC)), cytotoxicity (lactate dehydrogenase, acetylcholine esterase, caspase 3), genotoxicity (GADD45, RAD51), and biotransformation effectiveness (CYP1A) to display the multiplier effects of bioactive compounds produced by cyanobacteria.

Results and discussion: The biomarker responses *D. rerio* depicted different mode of action for biosynthetic substances derived from extracts of cyanobacterial strains. In particular, treatment of zebrafish with cyanobacterial extract SAG31.79 and particularly with SAG1.97 induced a significant increase levels of TBARS (by~120%) and PC (~2.0–2.5-fold) in response to all experimental treatments. Tissue levels of GSH enhanced up to 40% in all studied groups. The same trend of changes was observed for GST and CAT activities in case of AMU-DH-1 extract, but opposite one (recognised as suppression) for SAG1.97 extract. LDH in the blood plasma as the proved marker of tissue damage slightly decreased of the fish exposed to the extract of AMU-DH-1 strain and increased after exposures to the SAG1.97 extract. Exposure to the cyanobacterial extracts increased mRNA expression of caspases 3 by~2.6–4.2-fold. AChE activity was significantly inhibited in the brain of the fish by all studied cyanobacterial extracts. CYP1A was down-regulated in the livers of the fish exposed to the extracts of AMU-DH-1 (by~1.4–1.9-fold) and SAG31.79 (by ~2.3–2.4-fold).

Conclusions: Studied cyanobacterial extracts caused oxidative stress, neurotoxicity, promote apoptosis, but didn't reveal a genotoxic potential. These findings help to further understand the ecotoxicological consequences of toxic cyanobacterial blooms in freshwater ecosystems.

Acknowledgement: This work has been granted by Ministry of Education and Science of Ukraine (Project #MV-2) and partly by the National Research Foundation of Ukraine (Project 2020.02/0270).

2.4-DINITROPHENOL AFFECT STRESS RESISTANCE AND CARBOHYDRATE METABOLISM IN *DROSOPHILA MELANOGASTER*

A.V. Zayachkivska, U.V. Semaniuk, O.M. Strilbytska

Vasyl Stefanyk Precarpathian National University, Ivano-Frankivsk.

zayachkivska99@gmail.com

Introduction. Until 1938, 2.4 DNP was used as an official medicine for weight loss but was banned due to the serious side effects development (skin damage, cataracts, otitis, etc.). We have already showed the possibility of 2.4 DNP to decrease weight without toxic impact on *Drosophila* some physiological traits (lifespan and fecundity). The aim of this study was to investigate the effect of a moderate ("soft") uncoupling of mitochondria 2.4-DNP on stress resistance and carbohydrate metabolism in *Drosophila melanogaster*.

Methods. We used w^{1118} male flies *Drosophila melanogaster*. The 2.4-DNP was added to the experimental medium (15% sucrose, 15% dry yeast) at different concentrations ranged from 50 to 500 mg/l. Flies kept on the experimental media for 15 days. Resulted flies were divided into two cohorts: the first cohort was exposed to stressful conditions; the second cohort was frozen in liquid nitrogen for biochemical measurements. We assayed the resistance to starvation, menadione treatment, and resistance to high and low temperature regimes. Determination of glycogen and glucose content was performed using the diagnostic kit Glucose-Mono-400-P according to the manufacturer's instructions.

Results. Males fed diets with 100 mg/l 2.4-DNP were long-lived under starvation conditions. However, supplementation of 100 mg/l 2.4-DNP decreased resistance to menadione treatment as compared to control. The recovery time of flies was lower under consumption of medium with 100 and 200 mg/l 2.4-DNP as compared to control. The resistance to cold shock was not affected by 2.4-DNP supplementation to the diet. The glucose concentration in the hemolymph was lower in flies which consumed medium with 50 mg/l of 2.4-DNP as compared to the control group. The content of glucose in the body and stored glycogen did not differ between the experimental and control groups.

Conclusions. The results revealed that 2.4-DNP significantly enhances the resistance to starvation and heat stress. The hemolymph glucose level was decreased under 2.4-DNP supplementation to the experimental media.

EFFECTS OF ATRAZINE HERBICIDE ON PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER*

S.M. Klishch, O.M. Strilbytska, N.I. Burdyliuk

Vasyl Stefanyk Precarpathian National University, Ivano-Frankivsk.

svitlanaklishch123@gmail.com

Introduction. Atrazine herbicide is commonly used in agriculture for destroying or inhibiting the growth of unwanted plants. Due to a widespread utilization of Atrazine, it represents a risk factor for various nontarget organisms. Here we asked how Atrazine influences *Drosophila* development and some antioxidant enzyme activities.

Methods. Wild-type *Canton S* flies were raised on experimental media containing 5% sucrose, 5% yeast, 1% agar, 0.6% propionic acid and 0.18% nipagin supplemented with different concentrations of Atrazine (0.01 g/l; 0.025 g/l; 0.1 g/l; 0.5 g/l). The effect of herbicide on fly development was evaluated by estimating the pupation rate. The percentage of pupated larvae and the number of flies emerging after pupation were also calculated to assess the developmental survival rate. Pupation height was determined as a distance (in millimeters) from the surface of the medium. Two-day-old flies were separated by sex and used for the determination of aconitase and catalase activities.

Results. High concentrations of herbicide in the medium slowed down pupation rate, which was followed by decreased developmental survival. The amount of pupated larvae was ~22% lower in groups developed on medium supplemented with herbicide in concentrations 0.025 g/l; 0.1 g/l and 0.5 g/l. The number of emerged flies decreased considerably with the increase of Atrazine concentration in food. Maximal pupation height was observed in a group raised on medium with 0.025 g/l herbicide and it was 17% higher as compared to control. However, the highest concentration of Atrazine (0.5 g/l) led to a substantial decrease in pupation height. Aconitase activity in females developed on the medium with 0.01 g/l herbicide was 2-times higher if compared to control. Atrazine treatment had no significant effect on catalase activity in two-day-old flies.

Conclusions. High concentrations of Atrazine herbicide slow down the development of *Drosophila melanogaster*, which may indicate its adverse effects since the higher the concentration of herbicide, the fewer the number of pupated larvae as well as the number of flies that emerged.

TOXICOLOGICAL ASPECTS OF ROUNDUP HERBICIDES ACTION ON *DROSOPHILA MELANOGASTER*

L.V. Rybchuk, O.M. Strilbytska, N.I. Burdyluik

Vasyl Stefanyk Precarpathian National University, Ivano-Frankivsk

lesya.ribchuk2000@gmail.com

Introduction. Roundup is a non-selective herbicide that is used to control perennial weeds. The formulation of Roundup consists of glyphosate and many studies have demonstrated the toxic effects on non-target organisms. The study aimed to investigate the effect of Roundup on a non-target organism *Drosophila melanogaster*. Namely, to investigate pupation rate, pupation height, the ratio of eggs/pupae and pupae/flies, the activity of aconitase and catalase.

Methods. Wild-type *Canton S* flies were used in the study. The experimental medium contained 5% sucrose and 5% yeast, as well as Roundup at concentrations: 1 g/L; 2.5 g/L; 5 g/L; 10 g/L. The rate of pupation was determined since the first pupae appearance, a number of pupae expressed as a percentage. The pupation height of each pupa was determined in millimeters, after which this indicator was expressed as the average value. The number of eggs was counted with binoculars, the total number of pupae and flies after hatching was counted. Then the ratio of eggs/pupae and pupae/flies was calculated. Catalase and aconitase activity was determined spectrophotometrically.

Results. We found that pupation rate was retarded on a diet with 5 g/L and 10 g/L Roundup supplementation. Flies that fed a diet with 2.5 g/L displayed a higher pupation height as compared to the control group. Consumption of the medium with 2.5 g/L; 5 g/L and 10 g/L of Roundup led to lower egg/pupae and pupae/flies ratio compared to the control group. Females that consumed food with 1 g/L; 2.5 g/L; 10 g/L of Roundup had lower aconitase activity as compared to the control group. Catalase activity was higher in females who consumed media with 1 g/L; 5 g/L; 10 g/L of Roundup versus control.

Conclusions. Consumption medium with high concentrations of Roundup leads to a slowdown in the *Drosophila* development and a decrease in the number of eclosed flies. Consumption of the herbicide by females reduces the activity of aconitase but increases the activity of catalase.

EFFECTS OF DUAL EXPOSURE TO ROUNDUP AND ATRAZINE ON SOME PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER*

K.M. Starchevska, O.M. Strilbytska, N.I. Burdyliuk

Vasyl Stefanyk Precarpathian National University, Ivano-Frankivsk.

kateryna.starchewska@gmail.com

Introduction. Roundup (R) and Atrazine (A) are two of the most widely used herbicides. Sum of their individual effects, and these interactions on non-target model organism *Drosophila melanogaster* are difficult to predict. This study aimed to investigate the effect of R and A combination on eggs/pupae ratio, flies/pupae ratio, pupation height, pupation rate, aconitase and catalase activities in males *D. melanogaster*.

Methods. *Canton S* line flies were used in the current study. The experimental medium contained 5% sucrose, 5% dry yeast and herbicides at concentrations: 0.1% A; 2.5% R; 0.1% A + 2.5% R. Eggs/pupae and flies/pupae ratios were determined by counting of eggs, pupae and flies. Pupation height was measured in millimeters as a distance from an upper-medium point to pupae. Pupation rate was assessed as the percentage of larvae that pupated over time. Aconitase and catalase activities were measured spectrophotometrically.

Results. Eggs/pupae ratio was lower in flies that developed on the medium with 0.1% A, 2.5% R and 0.1% A + 2.5% R as compared to the control. Flies/pupae ratio was decreased only in flies developed on the medium with the combination of herbicides as compared to control. Pupation height was not significantly affected by herbicide supplementation. Pupation rate was slowed down in flies that developed on medium with both herbicides as compared to control. Aconitase activity was higher in males developed on medium with the combination of herbicides as compared to control. Decreased catalase activity was detected in males developed on medium with 2.5% R.

Conclusions. The combination of herbicides slowed down the development of flies, reduced eggs/pupae and flies/pupae ratios. Atrazine+Roundup supplementation significantly affected redox metabolism in *Drosophila*.

BIOCHEMICAL RESPONSES OF BIVALVE MOLLUSK TO IBUPROFEN DEPENDENT ON THE PRESENCE OF MICROPLASTICS AND HISTORY OF POPULATION

V.V. Martyniuk¹, V.V. Khoma¹, T.R. Mackiv^{1,2}, K.B. Yunko¹, R.T. Formanchuk¹,
A.I. Nikonchuk¹

¹Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University, Ternopil;

²I.Ya. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil.

martynjyk23@ukr.net

Introduction. Non-steroidal anti-inflammatory drugs can disrupt cellular functions in the non-targeted organism even in the nanomolar concentrations and expected to interact with microplastics (MP) in the environment. The goal of this study was to evaluate the responses of filter-feeding organism bivalve mollusk to the combine exposure of ibuprofen (IBU) and MP depending on the population history utilizing the biochemical indexes.

Methods. The specimens of *Unio tumidus* were collected from the pristine (Pr) and polluted (Pt) sites and treated with IBU (0.8 $\mu\text{g L}^{-1}$), MP (1 mg L^{-1} , < 0.5 mm), or their combination (IBU-MP) for 14 days. Untreated mussels (PrC and PtC) were also examined. Totally 25 indexes of Zn accumulation, oxidative stress, detoxification, metabolic and apoptotic activities were determined including ABTS* test, Mn- and Cu,Zn- SOD, CAT, GST, lipid peroxidation (TBARS), protein carbonylation (PC), GSH&GSSG, metallothioneins (MT-SH, Zn-MT), NADH/NAD⁺, Cyp450-related (EROD), caspase-3, cathepsin D (CtD), ChE, citrate synthase (CS) activities and lysosomal stability (NRR).

Results. PrC group demonstrated higher level of antioxidant, metabolic and biotransformation activities compared to PtC group. In the exposures, several shared regularities for both populations were found. CtD activities were up-regulated by 1.5-3 times, whereas NRR and ChE levels were not diminished. IBU-contained exposures caused EROD and NADH depletion but increased CS and ABTS* scavenging, NRR and ChE levels. MP enhanced Mn-SOD level. However, the intersite differences were prominent. Only the mollusks from the Pr site decreased MT-SH in all exposures and caspase-3 activity under the IBU and IBU-MP effect.

Discussion. Our results confirmed some specific responses to IBU and MP indicated previously for the vertebrates. The presence of MP distorted the responses to IBU, particularly in the Pr population, indicating the validity of selected model organism and importance of the history of population for the resistance to adverse effects.

Conclusions. MP alters the cytotoxicity of IBU in mussels with population-dependent severity.

Acknowledgment. We are grateful the supervisor of the Ukrainian-Lithuanian R&D Project of MES of Ukraine No M19/2020 Prof Oksana Stoliar and staff of this project Dr Lesya Gnatyshyna for their professional guidance and valuable support of this study.

FERULIC ACID AFFECTS STRESS RESISTANCE IN *DROSOPHILA MELANOGASTER*

N. Stefanyshyn, U. Semaniuk, O. Strilbytska, N. Burdylyk

Vasyl Stefanyk Precarpathian National University, Ivano-Frankivsk.

nadya_stefanyshyn@ukr.net

Introduction. Ferulic acid (FA) is one of the common phenolic compounds contained in plants. Due to its antioxidant properties, FA is often used as a food supplement. In addition, FA is characterized by antitumor, antidiabetic, anti-inflammatory, cardioprotective and neuroprotective properties. We **aimed** to investigate how FA may affect resistance to stress factors in *Drosophila melanogaster*.

Methods. We used *Canton S* flies *Drosophila melanogaster*. Flies aged five days were placed separately by sex at standard densities of 150 flies per 1.5 L demographic cage with the attached 25 ml plastic vial, which was filled by the 5 ml of standard nutrient medium and different concentrations of FA: 70 μmol and 200 μmol during 14 days. Resistance to starvation was measured by feeding experimental flies with 0.5% agarose medium. Sensitivity to oxidative stress was assessed by adding 20 mM menadione as an inducer of oxidative stress. To investigate the resistance to heat we fixed entry and recovery time from heat coma under 43 °C; resistance to cold (0 °C) was determined by fixing chill coma recovery time.

Results. Males, which consumed 200 μmol of FA had a lower survival under menadione treatment. The chill coma recovery time was lower in females, which consumed medium with 70 μmol of FA as compared to the control group. Moreover, the heat coma recovery time was lower in males, which consumed medium with 70 μmol of FA. Resistance to starvation in flies of both sexes was not affected by FA supplementation to the experimental medium.

Conclusions. Our results demonstrated, that FA significantly increased resistance to heat stress, probably through activation of heat shock proteins. We found that 200 μmol of FA caused lower survival in males under menadione treatment, that can be related to prooxidant activity at high concentration.

Acknowledgment. We would like to thank Oleh Lushchak for his help in the work. This research was supported by a grant from the National Research Foundation of Ukraine.

IMPACT OF MALATHION ON THE PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER*

T.R. Strutynska, N.I. Burdylyk, O.M. Strilbytska

Vasyl Stefanyk Precarpathian National University, Ivano-Frankivsk

tanya1860st@gmail.com

Introduction. Malathion is a broad-spectrum organophosphorus insecticide used in agriculture against a wide range of insects. Despite on high toxicity of malathion towards target organisms, some insects developed mechanisms of resistance to malathion exposure. In this study, we investigated the influence of malathion on *Drosophila melanogaster* physiological traits during development. Thus, obtained data could be useful tool providing opportunities to counteract resistance emergence or to develop this resistance in useful insects.

Methods. The *Drosophila melanogaster CantonS* flies were used in the current study. The experimental medium contained 1% of agar agar, 5% of sucrose, 5% of yeasts, 0.18% of methylparaben and different concentrations of malathion ranged 0.01-250 mg/l. Flies' eggs were transferred on experimental medium with a further determination of developmental rate, pupation height, the ratio of eggs-to-pupae and pupae-to-adults. Chronic dietary toxicity values including LC₅₀ (lethal concentration), NOEC (no observed effect concentration) and LOEC (lowest observed effect concentration) were determined by calculating the number of pupae and developed imago under malathion exposure. Additionally, the LC₅₀ value was estimated using probit analysis.

Results. Flies which consumed media with malathion at concentrations 50 g/l-250 mg/l developed slower as compared to control. Furthermore, the number of pupae was significantly lower in experimental groups consumed medium with 0,025-0,5 mg/l and 50-200 mg/l of malathion. A significantly lower quantity of eclosed flies was detected under consumption of malathion at concentrations 0.05, 25, 50 and 100 mg/l. Interestingly, consumption of medium with 150, 200 and 250 mg/l of malathion caused paralysis and total mortality after eclosion. We also found that pupation height was lower under consumption of medium with malathion at concentrations 150 and 200 mg/l as compared to control. The LC₅₀ was determined 150 and 50-100 mg/l for eggs and pupae respectively. The NOEC value was 0.01 mg/l for eggs and 0.01 to 0.025 mg/l for pupae. The LOEC value was 0.025 and 0.05 mg/l for eggs and pupae respectively.

Conclusions. Malathion significantly influences developmental parameters in *Drosophila*. Malathion supplementation at concentrations 50-250 mg/l inhibits developmental rate, lowers pupation height that indicates about toxic effects of malathion at experimental concentrations.

Зміст

| | |
|--|----|
| V.L. Bilous, O.S. Pavlova ¹ , I.R. Kyryliuk. Protective effects of thiamine and methovitan treatment in cornea of rats exposed to chronic ethanol consumption | 4 |
| V. Borschovetska, V. Ivantsiv. Free radical processes in the mitochondrial fractions of rats' liver under the conditions of bpa administration and low-level laser irradiation | 5 |
| O.O. Dovban, Y.P. Kovalchuk. Neural cell adhesion molecule level and antioxidant system after intracerebral hemorrhage | 6 |
| A.O. Mazanova, A.V. Khomenko, D.O. Labudzynskiy, O.Yu. Lototska. Corrective effect of vitamin d3 on bone remodeling imbalance in experimental type 2 diabetes | 7 |
| M. Nuriakhmetova, O. Lisakovska. The state of vitamin D auto/paracrine system in rats with prednisolone-induced neurotoxicity | 8 |
| T. Tykhonenko. Alterations of the functionally important proteins in brain under diabetes mellitus: effect of nicotinamide | 9 |
| A. S. Tkachenko, A. I. Onishchenko, H. V. Polikarpova. A common food additive E407a promotes infiltration of the small intestinal lamina propria with CD3+ and CD68+ cells in rats | 10 |
| Н.М. Чорненька, А. С. Юет, Я.Б. Раєцька. Експресія гену NOS2 та активність синтази оксиду азоту за лужного опіку стравоходу і за введення меланіну | 11 |
| D. Aristova, V. Kosach, S. Chernii. Monomethine cyanine dye as RNA-selective probe for fluorescence microscopy | 13 |
| Т.І. Думич, С.Я. Парижак, О.Ю. Ключівська. Вплив γ -Fe ₂ O ₃ -вмісних наночастинок на клітини крові ссавців | 14 |
| О.О. Калініченко, О.А. Шидловська. Аналіз вмісту колагену у зразках відходів шкіряного виробництва після холодної стерилізації | 15 |
| А.І. Качор, С.І. Тістечок, М. Стірхоф. Активування криптичних кластерів генів біосинтезу вторинних метаболітів у <i>Streptomyces</i> sp. pv 4-95 | 16 |
| С.В. Кудіна, О.А. Шидловська. Антибактеріальна дія хлорамфеніколу та полігексаметиленгуанідин гідрохлориду в складі колагенового носія. | 17 |
| О.В. Павлюк, Р.І. Пальонко, В.О. Прис-Каденко, П.М. Феदिшин, К.О. Калиновська. Вплив біопрепаратів (Біофосфомаг, ОВА, ОВА+) на культури Т- і В-лімфоцитів | 18 |
| P. Pikus, S. Rymar, N. Shuvalova, A. Pustovalov. Role of umbilical cord-derived mesenchymal stem cells in the rat model of acute pancreatitis | 19 |
| A.O. Pitishkina, O.M. Platonov, T.M. Chernyshenko, V.I. Gryshchuk, O.V. Gornytska. Purification of protein C activator from <i>Calloselasma rhodostoma</i> venom and its approbation for the determination of protein c in blood plasma | 20 |
| N.S. Finiuk, O.L. Paiuk, K.I. Volianiuk. Gene delivery to mammalian cells by novel cationic poly-dmaema carrier | 21 |
| А.О. Бавельська. Вплив АТР на вміст кардіоліпіну та концентрацію іонізованого кальцію у мітохондріях міомерія | 23 |
| M. I. Bekala, V. J. Markhaychuk, I. R. Horak, I. P. Krysiuk, T. D. Skaterna, A. G. Grebinyk, O. O. Gudkova, N. V. Latyshko, T. O. Kishko, O. O. Hrabovskyi, S. V. Prylutska. Nanocomplex of berberine with C60 fullerene effectively decreases proliferation, motility, and metastasis of lung cancer cells. | 24 |

| | |
|--|----|
| О.В. Гольден. калікс[4]арен С-956 як новий низькомолекулярний селективний інгібітор кальцієвої помпи плазматичної мембрани та модулятор концентрації Ca ²⁺ у гладеньком`язових клітинах | 25 |
| I. R. Horak, O. O. Gudkova, N. V. Latyshko, T. O. Kishko, M. O. Shkoda, M. R. Kyrychenko, R. S. Korshun. Adaptor protein Ruk/CIN85 as a potent inducer of the warburg effect in breast cancer cells | 26 |
| Л.М. Калиновська, К.О. Палієнко, В.О. Устименко, М.В. Дударенко. Зміни ПРОЦЕСІВ глутамат- та гамкергічної нейротрансмісії за умов забруднення повітря твердими частинками диму при згорянні пластику | 27 |
| Р.С. Коршун, О.О. Гудкова, Т.Д. Скатерна, І.Р. Горак, Н.В. Латишко. Нокдаун адаптерного протеїну Ruk/CIN85 в клітинах карциноми легені Льюїс призводить до метаболічного репрограмування, асоційованого зі зниженням агресивності їх фенотипу | 28 |
| Ye.P. Kucheriavyi, V.I. Gryshchuk, A.V. Rebriev, O.M. Platonov, K.S. Savchenko. The mechanism of anticoagulant action of the venom of <i>Brachypelma Smithi</i> . | 29 |
| A.Y. Puhach, V.T. Hurska, A.V. Saichuk. Investigation of mitochondrial NO synthase and its association with cAMP-dependent pathway | 30 |
| O.M. Platonov, R.Yu. Marunych, A.V. Rebriev, M.V. Ryzhykova, K.S. Savchenko, V.I. Gryshchuk, L.V. Garmanchuk. Studying the effects of snake venom disintegrins on platelet aggregation and tumor cell viability | 31 |
| U.V. Semaniuk, I.S. Yurkevych, O.M. Strilbytska. Influence of chili on the physiology, metabolism and respiratory activity of mitochondria in <i>Drosophila</i> | 32 |
| A. Yu. Zhyvolozhnyi, M. O. Gomozkova, I. R. Horak. Extracellular vesicles produced by mouse breast adenocarcinoma 4T1 cells with up- or down-regulation of adaptor protein Ruk/CIN85 modulate in specific mode the biological properties of 4T1 WT cells | 33 |
| O. Horyn, I. Osypenko, N. Kasianchuk, Kh. Nimko, H. Kovalska. Multibiomarker assessment in <i>Danio rerio</i> exposure to cyanobacteria crude extracts | 35 |
| A.V. Zayachkivska, U.V. Semaniuk, O.M. Strilbytska. 2,4-dinitrophenol affect stress resistance and carbohydrate metabolism in <i>Drosophila melanogaster</i> | 36 |
| S.M. Klishch, O.M. Strilbytska, N.I. Burdyliuk. Effects of atrazine herbicide on physiological and biochemical parameters of <i>Drosophila melanogaster</i> | 37 |
| L.V. Rybchuk, O.M. Strilbytska, N.I. Burdyliuk. Toxicological aspects of roundup herbicides action on <i>Drosophila melanogaster</i> | 38 |
| K.M. Starchevska, O.M. Strilbytska, N.I. Burdyliuk. Effects of dual exposure to roundup and atrazine on some physiological and biochemical parameters of <i>Drosophila melanogaster</i> | 39 |
| V.V. Martyniuk, V.V. Khoma, T.R. Mackiv, K.B. Yunko, R.T. Formanchuk, A.I. Nikonchuk. Biochemical responses of bivalve mollusk to ibuprofen dependent on the presence of microplastics and history of population | 40 |
| N. Stefanyshyn, U. Semaniuk, O. Strilbytska, N. Burdyliuk. Ferulic acid affects stress resistance in <i>Drosophila melanogaster</i> | 41 |
| T.R. Strutynska, N.I. Burdyliuk, O.M. Strilbytska. Impact of malathion on the physiological parameters of <i>Drosophila melanogaster</i> | 42 |

Наукове видання

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна
Національної академії наук України

**Збірник тез
конференції-конкурсу молодих вчених
«Актуальні проблеми біохімії і біотехнології – 2021»**

Підписано до друку 18.05.2021 р.
Формат 60×90/16. Папір офсет.
Гарнітура «Times New Roman». Умов. друк. арк. 2,75.
Тираж 30 прим. Замов. №36.

Видавець: Санченко А.В.
Номер свідоцтва про внесення суб'єкта видавничої справи до
Державного реєстру видавців, виготівників і розповсюджувачів
видавничої продукції № ДК4371 від 23.07.2012 р.
barcarola@meta.ua
+380919004879