

**ВИБРАНІ ТЕЗИ ДОПОВІДЕЙ**  
**на XVIII Міжнародній науковій конференції «Фактори експериментальної**  
**еволюції організмів» (26–29 вересня 2023 р., м. Київ, Україна)**

**АНТОНЮК М.З., ТЕРНОВСЬКА Т.К.**

Національний університет «Києво-Могилянська академія», Київ, Україна  
e-mail: antonyuk.m@ukma.edu.ua

**МІНЛИВІСТЬ ГЛІАДИНОВОГО СПЕКТРА У ГІБРИДАХ**  
**ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ТА ПШЕНИЦІ МІГУШОВОЇ**

Розширення меж генетичної мінливості пшениці м'якої (*Triticum aestivum* L, A<sup>a</sup>A<sup>a</sup>BBDD) вважається актуальним завданням через надію забезпечення генетичної стійкості до несприятливих факторів довкілля, а також покращення найголовнішої хлібної культури за ознаками, що за ними ведеться селекція. Пшениця Мігушової (*T. miguschovae* Zhig.) є штучним амфідиплоїдом (*T. militinae* x *Aegilops tauschii*) з геномом A<sup>b</sup>A<sup>b</sup>GGDD [Жиров, 1980]. Видатною властивістю цієї пшениці є стійкість до фузаріозу [Fedak, 2015], грибному захворюванню, яке в останні роки набуває рис найнебезпечнішого. Вид характеризується також високим вмістом білка у зерні [Злацька і співавт., 1999]. Тому отримання та вивчення гібридів між цими пшеницями є бажаним. Наразі ми вважаємо, що наслідок інтрогресивної гібридизації полягає не лише у перенесенні чужинного хроматину до геному виду, чий генофонд планується розширити, а і в індукції генетичної нестабільності резидентного геному на генетичному та епігенетичному рівнях. Свідченням такої нестабільності може стати поява в гібридних нащадків новітніх ознак, які не були притаманні жодному з компонентів схрещування [Yang et al., 2012, Iefimenko et al., 2018].

Досліджували нащадків F<sub>4</sub> від схрещування *T. miguschovae* x *T. aestivum* щодо відповідності електрофоретичних компонентів гліадинового спектра очікуваним згідно з походженням гібридів. Порівнювали спектри гібридів зі спектрами пшениці Мігушової та пшениці м'якої сортів Вдала та Панна. Спектри отримано електрофорезом гліадинів у поліакриламідному гелі. У парі спектрів пшениця Мігушової/Вдала були різними за рухливістю 17 компонентів із спільної кількості 24. У парі пшениця Мігушової/Панна – лише 10 з 26. В спектрах зернівок F<sub>4</sub> були у наявності сполучення компонентів, притаманних батьківським рослинам, які дали гібриди F<sub>1</sub>, що доводить гібридне походження зернівок F<sub>4</sub>.

Вивчення гліадинових спектрів гібридних зернівок виявило два неочікуваних факти. По-перше, в спектрах зернівок F<sub>4</sub> домінують поліморфізми (компоненти спектра), що характеризують пшеницю Мігушової. Це домінування не залежить від того, якою альтернативною (компонент у наявності/компонент відсутній) є поліморфізм, властивий пшениці Мігушової. По-друге, поява у гібридних спектрів новітніх компонентів, 7, 21, 26, 27, яких не було не лише у спектрах компонентів ініціального схрещування, пшениця Мігушової, Панна, Вдала, а і в спектрах інших сортів пшениці м'якої, які зростали в полі поряд з гібридами. Компонент 21 зустрічається практично у всіх спектрах за рідкісними виключеннями. Компонент 7 наявний серед нащадків трьох з семи гібридів F<sub>3</sub> від схрещування пшениці Мігушової з Вдалою. Серед гібридів з Панною він наявний у спектрах 10 з 12 гібридів F<sub>3</sub>. Маємо припустити, що цей компонент виник *de novo* в ранньому гібридному поколінні внаслідок невстановлених поки молекулярних подій, які могли внести зміни не лише в послідовність нуклеотидів гліадинових генів, а і в регуляцію їхньої експресії, що прямо відбиватиметься на альтернативі компонент є/компонента немає. Компоненти 26 та 27 були у наявності в спектрах зернівок F<sub>4</sub>, які походять лише від однієї рослини F<sub>3</sub>, № 621. Можна припустити, що молекулярна подія, наслідком якої стала поява новітніх компонентів, відбулась саме у цій рослині. Тепер вона може стати об'єктом подальших досліджень на рівні ДНК щодо природи молекулярних процесів, які відбуваються у геномах гібридного походження та стануть джерелом виникнення нових фенотипних подій.

**ЖУКРОВСЬКА К.-О.<sup>1</sup>, ЮЩУК О.<sup>1</sup>, БІНДА Е.<sup>2</sup>, МАРІНЕЛЛІ Ф.<sup>2</sup>, ФЕДОРЕНКО В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені І. Франка, Львів, Україна. Біологічний факультет, кафедра генетики та біотехнології

<sup>2</sup>Університет Інсубрії, Варезе, Італія. Факультет біотехнології та наук про життя  
e-mail: k.zhukrovska@gmail.com

## **ГЕТЕРОЛОГІЧНА ЕКСПРЕСІЯ ГЕНІВ STRR-ПОДІБНИХ ТРАНСКРИПЦІЙНИХ РЕГУЛЯТОРІВ З КЛАСТЕРІВ БІОСИНТЕТИЧНИХ ГЕНІВ РАМОПЛАНІНУ ТА ЧЕРСІНАМІЦИНУ**

Рамопланін – це нерибосомально синтезований ліпоглікодепсипептидний антибіотик, продуцентом якого є «нетиповий» актиноміцет *Actinoplanes ramoplaninifer* ATCC 33076. Багато біосинтетичних і регуляторних аспектів синтезу цього антибіотика залишаються незрозумілими, частково через складність культивування і проведення генно-інженерних маніпуляцій з штамом-продуцентом. Іншим представником цієї малочисельної групи антибіотиків є нещодавно відкритий черсінаміцин [Morgan et al., 2020], механізми біосинтезу якого та їх генетична регуляція ще не були досліджені раніше. Ця робота спрямована на дослідження регуляторних генів, що закодовані у кластері біосинтетичних генів (КБГ) рамопланіну та черсінаміцину.

Біоінформатичний аналіз показав, що КБГ рамопланіну та черсінаміцину містять по одному гену StrR-подібних регуляторів, *ramo5* та *Orf28* відповідно. StrR – це родина білків-активаторів, які є шлях-специфічними регуляторами кластерів біосинтезу різноманітних сполук. Підвищення рівня продукції антибіотика шляхом надекспресії шлях-специфічних регуляторів, наявних у кластерах, або їх експресія у гетерологічних господарях – це методи, які неодноразово довели свою ефективність [Chen et al., 2019].

Ми дослідили вплив надекспресії даних генів в раніше добре охарактеризованих штаммах, що є продуцентами глікопептидних антибіотиків, зокрема: *Actinoplanes teichomyceticus* NRRL-B16726 (продуцент тейкопланіну) та *Nonomuraea gerenzanensis* ATCC 39727 (продуцент антибіотика A40926).

Було сконструйовано лінії штамів з надекспресіями генів *ramo5* та *Orf28*. Рекомбінанти першої лінії були створені на основі інтегративної векторної системи pSET152A, у якій цільові гени внесені під контроль конститутивного *aac(3)IVp* промотора, а рекомбінанти другої лінії з використанням інтегративної векторної системи pTES, де цільові гени внесені під контроль конститутивного промотора *ermEp*. Характеристика рівнів продукції антибіотиків у рекомбінантних штамів та штамів дикого типу на агаризованих середовищах проводилась з використанням тест-культури *B. subtilis* HB0950. Згідно з результатами тестування, *A. teichomyceticus* із надекспресією *Orf28*, внесеного під контроль *aac(3)IVp* промотора, продемонстрував найвищий рівень біосинтезу тейкопланіну. Окрім того, ми ферментували *A. teichomyceticus* у рідкому живильному середовищі TM1, що використовується для промислового синтезу тейкопланіну, і виявили, що рекомбінантний штам не лише продукує більшу кількість антибіотика, але й починає синтезувати його значно раніше (на 48 год росту), ніж штам дикого типу (на 120 год росту).

Ми дослідили перехресну регуляцію StrR-подібних регуляторів з КБГ рамопланіну та черсінаміцину в продуцентів глікопептидних антибіотиків *A. teichomyceticus* та *N. gerenzanensis*. Продуцент тейкопланіну видається більш схильним до покращення рівня синтезу антибіотика за допомогою надекспресії регулятора з КБГ черсінаміцину, ніж продуцент A40926. Отримані результати корелюють з проведеними раніше дослідженнями [Horbal et al., 2013] та підтверджують, що *aac(3)IVp* промотор виступає кращим активатором експресії цільових генів, ніж *ermEp*.

## **ІЗАТІЗОН ЗАХИЩАЄ ВІД СУЧАСНИХ ПРОБЛЕМ З БІОСТІЙКІСТЮ**

У світі відбувається деградація довкілля та криза стійкості живих організмів внаслідок зміни клімату, що може спричинити непередбачувані епізоотичні ситуації. Це вимагає застосування засобів з високою специфічністю противірусної, протимікробної, протипухлинної дії та паралельним імунорегулюючим ефектом.

Ізатізон – це комплексний вітчизняний препарат, розроблений А. І. Потопальським у співавторстві з Л. В. Лозюк у 1973 р., до складу якого входять речовини, що застосовуються як самостійні засоби у медичній практиці, а саме розчин 1-метилізатін-β-тіосемікарбозону (метисазон, марборан), диметилсульфоксид (димексид) і поліетиленгліколь.

Метисазон як похідне ізатін-тіосемікарбазонів є противірусним препаратом, який діє шляхом інгібування іРНК вірусу, зокрема його використовували для забезпечення короткострокового захисту проти віспи.

Ізатізон, як і метисазон має широкий спектр противірусної дії, проте, що дуже важливо, ізатізон в 20-100 разів ефективніший від метисазону і не проявляє токсичного ефекту. Препарат впливає на ДНК- та РНК-вмісні віруси, має виразні імуномодулюючі властивості та протипухлинну активність, не токсичний, і не проявляє побічних ефектів. Широкий спектр біологічної активності ізатізону ґрунтується на конформаційно-лабільній структурі молекули метисазону – головного діючого компоненту препарату і залежить від властивостей розчинника та мікро оточення, що було підтвержено спектроскопічними дослідженнями взаємодії ізатізону з наноконюгатом ЕМАРІІ (Hogiba Fluoro Max 4Plus).

Ізатізон – пегельований метисазон (марборан), затверджений у ветеринарії 10. 04. 02 № 15-14/105. В порівнянні з імпортованими препаратами значно дешевший, проявляє високий лікувальний ефект при профілактиці і лікуванні хвороб, які викликані вірусами і вірусно-мікробними асоціаціями, має імуномодулюючі властивості та не викликає побічних ефектів. Має потужну ранозагоюючу дію при ранах різної етіології, та протиопікову дію, що особливо важливо в умовах війни.

На доброольцях проявив себе як ефективний противірусний препарат для медицини: герпесвіруси (особливо оперізуючий лишай та герпес зостер), папіломавірус, грип, СНІД, епідемічний енцефаліт та менінгіт, вірусні гепатити А, В, С, ентерити, коронавіруси, натуральна віспа та поствакцинальні ускладнення, туберкульоз.

У ветеринарії ефективний при масових хворобах бджіл, риб, птахів, тварин: хвороба Марека, інфекційний ларинготрахеїт, бронхопневмонія та коронавіруси (коней, свиней, великої рогатої худоби).

Антивірусна дія ізатізону обумовлена його впливом як на вірусінфіковані клітини, так і на клітини імунної системи. Ізатізон є активатором неспецифічних факторів резистентності, що впливає з його стимулюючої дії на прояви метаболічної та фагоцитарної функції макрофагів, на активність природних кілерів і синтез лізоциму.

Ізатізон володіє протипухлинними властивостями. Зокрема антибластичний ефект ізатізона був виявлений при карциномі Ерліха (солідний варіант), лімфосаркомі ЛЮ -1 та меланомі Гардінг Пассі на самцях безпородних білих мишей. Дослідження активності ізатізону щодо карциноми легені Льюїса на лінії мишей C<sub>57</sub>Black показало, що ізатізон в 5 разів зменшив обсяг метастазів і у 2,5 рази зменшив середню кількість метастазів. Вживаність тварин, лікованих ізатізоном, становила 72 % порівняно з 33 % у контролі.

Таким чином, показана перспективність широкого застосування ізатізону в медицині і ветеринарії.

## АПРОБАЦІЯ ТЕХНОЛОГІЇ БАГАТОСТУПІНЧАСТОЇ АДАПТАЦІЇ РОСЛИН *IN VITRO* ДО УМОВ *EX VITRO* ТА *IN SITU* НА ПРИКЛАДІ ДЕЯКИХ ВИДІВ РОДУ *CARLINA L.*

Багато лікарських рослин, які застосовуються традиційною медициною, є рідкісними або зникаючими. До таких рослин належать види роду *Carlina L.* Вони занесені до Червоної книги України (2009) і мають статус вразливих. Попередньо Л.Р. Грицак та співавторами була розроблена технологія збереження високогірних видів із використанням стратегії «quasi» *in situ* та методів біотехнології на прикладі видів роду *Gentiana L.* Запропонований підхід передбачає проведення синекологічних, популяційних досліджень, а також детальне вивчення залежності структурно-функціонального стану рослин від природних умов росту та умов культивування *in vitro*. Врахування едафічних потреб, температурного та світлового режимів росту в природі дозволить значно підвищити адаптаційний потенціал посадкового матеріалу ще на етапі *in vitro*, мінімізувати ризик геномних змін рослин, забезпечити їх 100% приживання в природних умовах, використовувати культури *in vitro* досліджуваних високогірних видів як альтернативний варіант їх колекцій *ex situ*. Морфометричні параметри анатомічних структур, показники функціонального стану фотосинтетичного апарату, водного режиму рослин із природи використовуються як маркери структурно-функціонального стану рослин на етапах культивування *in vitro*, акліматизації до умов *ex vitro* та *in situ*. Враховуючи вище зазначене, метою нашої роботи було апробувати багатоступінчасту технологію адаптації високогірних рослин *in vitro* до умов *ex vitro* та *in situ* на прикладі деяких видів роду *Carlina L.*

Технологія передбачає 7 етапів. На першому етапі нами було здійснено інвентаризацію місцезнаходжень популяцій досліджуваних таксонів і проведено комплексний аналіз місць їх росту. На другому етапі було досліджено вікову структуру, життєздатність популяцій, інтенсивність антропогенного впливу на популяції рослин, а також здійснено відбір зразків ґрунту, рослин, насіння, що послужили матеріалом для наступних трьох етапів.

На третьому етапі було досліджено вміст рухомих форм хімічних елементів та значення обмінної кислотності у ґрунтах із природних місць росту рослин видів роду *Carlina*, що дозволило встановити їхні потреби в елементах мінерального живлення та оптимізувати хімічний склад живильного середовища для культивування рослин *in vitro*. На четвертому етапі проведено комплексний аналіз структурно-функціонального стану рослин із природи, а саме: вміст та співвідношення фотосинтетичний пігментів рослин різних вікових груп, особливості функціонування фотосинтетичного апарату за показниками кінетики ключових параметрів флюоресценції хлорофілу *a*, показники водного режиму, а також використати їх як маркери для оцінки реакцій рослин *in vitro* на зміну фізико-хімічних умов їх культивування. На п'ятому етапі було проведено оптимізацію спектрального складу світла та елементного складу живильного середовища з урахуванням видоспецифічних потреб рослин, а також підібрано регулятори росту, що сприяло покращенню морфометричних параметрів рослин в умовах асептичної культури. На завершальних етапах плануємо здійснити перенесення асептичних рослин в умови *ex vitro* та провести оцінку їх життєздатності.

Отже, проведені нами дослідження свідчать про можливість застосування розробленої на прикладі видів роду *Gentiana* багатоступінчастої технології адаптації високогірних рослин *in vitro* до умов *ex vitro* та *in situ* для видів роду *Carlina*.

**КОНВАЛЮК І. І.<sup>1</sup>, БЄДА О. А.<sup>2,1</sup>, МОЖИЛЕВСЬКА Л. П.<sup>1</sup>, ДОБРЕЛЯ Н. В.<sup>3</sup>, СОЛОВЬОВ А. І.<sup>3</sup>, ЛУКАШОВ С. С.<sup>1</sup>, ЯРМОЛЮК С. М.<sup>1</sup>, КУНАХ В. А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Україна, 03143, м. Київ, вул. Акад. Заболотного, 150

<sup>2</sup>Наукова установа ТОВ «НАУКОВО-СЕРВІСНА ФІРМА «ОТАВА», Україна, 03143, м. Київ, вул. Акад. Заболотного, 150

<sup>3</sup>ДУ "Інститут фармакології та токсикології НАМН України", Україна, 03057, м. Київ, вул. Антона Цедика, 14

e-mail: konvalyuk.i.i@gmail.com

### **ВМІСТ ІНДОЛЬНИХ АЛКАЛОЇДІВ ТА ФІЗІОЛОГІЧНА ДІЯ ЕКСТРАКТІВ ВИСОКОПРОДУКТИВНОГО ШТАМУ К-27М КУЛЬТУРИ ТКАНИН *RAUWOLFIA SERPENTINA***

В Україні від серцево-судинних захворювань щороку помирають близько 400 000 осіб, що становить 60 % смертей [Укрінформ, 2023]. Саме тому актуальним є створення лікарських препаратів рослинного походження з цінними вторинними метаболітами, які б мали антиаритмічну та гіпотензивну дію. *Rauwolfia serpentina* Benth. Ex Kurz – тропічна рослина, у коренях якої накопичується понад 50 індольних алкалоїдів, що володіють антиаритмічною, гіпотензивною, седативною, психотропною активністю [Lobay, 2017]. Зокрема, аймалін та його похідні мають антиаритмічний ефект, аймаліцин також є  $\alpha$ -адреноблокатором та спазмолітиком, резерпін володіє седативною дією [Shamon, Perez, 2016; Tiwari, 2023]. Зважаючи на вичерпність природних ресурсів, перспективним способом одержання дефіцитної рослинної сировини є культура тканин *in vitro*, яка дозволяє цілорічно отримувати асептичну, якісну, екологічно чисту біомасу [Кунах, 2005; Mukherjee et al., 2019]. Саме тому в Інституті молекулярної біології і генетики НАН України створено та вирощується високопродуктивний штам К-27М.

Метою роботи було дослідити вміст алкалоїдів та фізіологічну дію різних екстрактів клітинної біомаси штаму К-27М культури тканин *R. serpentina*.

У результаті досліджень отримали п'ять фракцій екстрактів з різним складом алкалоїдів із сухої (фракції 1, 2, 3) та живої клітинної біомаси (фракції 4, 5) штаму К-27М. Фракція 1 містила аймалін та ацетилаймалін (загальна сума алкалоїдів 2,2 %), у фракції 2 переважали аймалін, ацетилаймалін та раукафріцин (заг. сума алкалоїдів 6,4 %). Фракція 3 містила аймалін та раукафріцин, а також мінорні алкалоїди (заг. сума алкалоїдів 29,0 %). У фракції 4 переважали воміленін, метилаймаліцин, аймаліцин та рауфлорідин (заг. сума алкалоїдів 65,0 %). У фракції 5 основним алкалоїдом був ацетилаймалін (заг. сума алкалоїдів 47,4 %).

Проведено скринінгові дослідження антиаритмічної та гіпотензивної дії отриманих фракцій. Встановлено, що фракції 4 та 5 мали виражену протиаритмічну дію на моделі аритмій, що індукувалися адреналіном у щурів. Водночас збіднені індольними алкалоїдами фракції 1 та 2 проявляли слабку проаритмічну дію. На моделі ішемічних та реперфузійних аритмій на ізольованих серцях мурчаків встановлено, що протиаритмічна активність фракції 5 за вираженістю ефекту не поступалася контрольному зразку аймаліну. Фракція 1 та 2, проявляли констрикторну дію на кільця грудної аорти щурів. В умовах *in vitro* виявлено вазорелаксуючу, а *in vivo* – короточасну (15-30 с) гіпотензивну дію фракцій 4 і 5. При цьому середній тиск крові знижувався на 25-30 % від початкового значення.

Отже, ми виявили залежність вмісту індольних алкалоїдів в екстракті від способу його отримання та стану клітинної біомаси штаму К-27М *R. serpentina*. Встановили, що ефект і спрямованість фізіологічної дії залежать від вмісту та складу алкалоїдів у дослідженій фракції. Встановлено, що фракції, отримані з живої біомаси, мають виражену антиаритмічну та короткотривалу гіпотензивну дію.

**ЛЕКТИНОВА АКТИВНІСТЬ БІОМАСИ КУЛЬТУРИ ТКАНИН  
УНГЕРНІЇ ВІКТОРА (*UNGERNIA VICTORIS*)**

Унгернія Віктора (*Ungernia victoris* Vved. ex Artjuschenko) – рідкісна ендемічна рослина, яку використовують в медицині при лікуванні бронхіту, поліомієліту, неврологічних хвороб, а також як адаптоген та імуностимулятор [Egamberdieva et al., 2017]. У листках й цибулинах цього виду містяться алкалоїди групи ізохіноліну, кумарин, ефірні олії, полісахаридні комплекси та інші біологічно активні сполуки (БАС), які потребують детального вивчення [Жамалова, Курбаниязова, 2021]. Зважаючи на потреби медицини у лікарських препаратах рослинного походження та виснаження природних ресурсів, перспективним джерелом БАС може бути культура *in vitro* рідкісних видів. Отримана в умовах *in vitro* біомаса є екологічно чистою, асептичною, стабільною та високопродуктивною за вмістом вторинних метаболітів сировиною [Kunakh, 2005]. В Інституті молекулярної біології і генетики НАНУ створено високопродуктивний штам культури тканин *U. victoris* з широким спектром терапевтичної дії: антимуутагенної, радіопротекторної, загальностимулюючої, регенеруючої та протипухлинної [патент UA 42982, 2001; UA 30865, 2008; Дворник, 2002, 2004].

Відомо, що серед БАС рослин особливе місце посідають вуглеводзв'язувальні білки – лектини, здатні аглютинувати еритроцити тварин [Луцик, 1981]. Рослинні лектини відіграють важливу роль у міжклітинних взаємодіях та формуванні захисних реакцій організму на стресові фактори довкілля [Бабоша, 2008]. Ці сполуки мають великий фармакологічний потенціал, проявляючи імуномодулювальну, антивірусну, антибактеріальну, протипухлинну активність [Bah et al., 2013]. У той же час інформація з літературних джерел щодо лектинів у складі *U. victoris* відсутня.

Тому, метою роботи було дослідити екстракти біомаси культури тканин *U. victoris* на вміст лектинів та надати їм загальну характеристику.

Лектинову активність (ЛА) визначали у надосаді та осаді після центрифугування водно-сольових екстрактів сухої біомаси культури тканин унгернії. Мірою ЛА вважається найбільше розведення (Т), де спостерігається реакція гемаглютинації в реакції з 2% суспензією еритроцитів людини, миші, курки.

Виявлено ЛА в осаді екстракту (Т=1:16) і незначну ЛА – у розчинній фазі (Т=1:2). Після обробки ультразвуком у розчинній фазі ЛА збільшилась до 1:32. Лектини можуть мати позаклітинну, зв'язану з клітинною стінкою і мембраною, а також ядерну локалізацію. Отже, можна зробити припущення, що мажорний лектин *U. victoris* знаходиться у зв'язаній формі. Ця сполука характеризувалася вираженою видоспецифічністю щодо еритроцитів миші > людини > курки. Визначення вуглеводної специфічності показало слабку афінність даного лектину до моноцукрів (галактози й галактозаміну) і виражене пригнічення ЛА у присутності складних полімерних молекул, характерних для тварин: гіалуронова кислота > гепарин > муцин. Для багатьох рослинних лектинів відома активність проти тварин-фітофагів, чим можна пояснити їхню здатність взаємодіяти з вуглеводними структурами тваринного походження.

Таким чином, ми вперше виявили лектинову активність екстрактів біомаси культури тканин *U. victoris*, що може стати перспективним джерелом лектину із широким спектром фармакологічних властивостей, які потребують подальших досліджень.

**ЛУКАШ Л.Л., МАЦЕВИЧ Л.Л., ПАПУГА О.Є., РУБАН Т.П., КОРНЕЛЮК О.І., ЗАЙКА Л.А., КОЛОМІСЦЬ Л.А., БЕРЕГОВА Т.В., СТЕПАНОВА Л.І., СУХОРАДА О.М., НІКІТІНА Н.С.**

*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України,  
Україна, 03143, м. Київ, вул. Заболотного, 150  
e-mail: lukash.imbg@gmail.com*

### **РЕПАРАТИВНА РЕГЕНЕРАЦІЯ ТКАНИН ШКІРИ ПРИ ЛІКУВАННІ МАСИВНИХ ОПІКІВ З ВИКОРИСТАННЯМ НОВИХ ЕКВІВАЛЕНТІВ ДЕРМИ НА ОСНОВІ СЕКРЕТОМУ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ЛЮДИНИ**

Незважаючи на досягнення регенеративної медицини, лікування масивних глибоких опікових ран залишається однією з найактуальніших проблем у всьому світі. За даними ВООЗ опіки посідають третє місце серед усіх видів травм мирного часу. Щороку у світі близько 6 млн осіб з опіковою хворобою потребують медичної допомоги. У мирні часи в Україні кількість хворих на опікову хворобу, які потребували стаціонарного лікування, становила близько 80 тис. на рік (серед них приблизно 10% — діти). Однак, в умовах воєнних дій значно зросла частота і важкість травматичних уражень шкіри, у тому числі й опіків. При масивних опікових ураженнях шкіри проводиться аутотрансплантація: пересадка лоскутів власної шкіри пацієнтів, якої конче не вистачає. Для підвищення ефективності лікування використовуються тимчасові замітники всієї шкіри або окремих її шарів. Найпопулярнішими є дермальні покриття або еквіваленти дерми, які стимулюють відновлення основи шкіри, дерми.

Так сталося, що більш, ніж 15 років тому ми отримали соціальне замовлення на розробку вітчизняних дермальних покриттів від хірургів Центру термічної травми і пластичної хірургії Київської клінічної лікарні № 2. Це стимулювало нас на розробку принципово нових заміників шкіри з включенням стовбурових клітин (СК) людини. Нам пощастило провести перші клінічні випробування вітчизняних еквівалентів дерми за спеціальним дозволом на обмеженому контингенті пацієнтів з масивними опіками. Виявилось, що розроблені нами покриття стимулювали відновлення дермального шару шкіри, і вже через 1–2 доби можна було проводити аутотрансплантацію. Всі пацієнти одужали, у всіх спостерігалось значне пришвидшення загоєння опікових ран до повної епітелізації. При цьому не було виявлено таких негативних наслідків, як відторгнення аутотрансплантантів або утворення рубців, що зустрічалися в контрольній групі.

На другому етапі ми провели широкомасштабні доклінічні дослідження на модельних тваринах (миші, щури) з термічними опіками і підтвердили ефективність СК людини в процесі загоєння опікових ран. Окрім цього, ми зробили дуже важливе спостереження і встановили, що замість СК оригінальної лінії 4BL можна використовувати кондиційоване клітинами середовище або секретом. Безклітинне кондиційоване середовище (БКС) виявилось навіть ефективнішим, ніж самі клітини, і стимулювало процеси репаративної регенерації тканин шкіри на всіх етапах. При цьому БКС знижувало рівень запалення майже до норми, притаманної здоровим тваринам. У спеціальних дослідах показано, що БКС не спричинює ані гострої, ані субхронічної токсичності в організмі піддослідних тварин.

На третьому етапі досліджень було зроблено два нововведення. По-перше, отримано ліофільно висушені порошки зразків БКС, які можна зберігати у холодильнику і швидко розчиняти та готувати еквіваленти дерми у випадку необхідності. По-друге, до БКС було додано фармацевтичний композит, який містить препарат ізатизон з антисептичними та антивірусними властивостями і попереджує інфікування ран, а також – рекомбінантний цитокін ЕМАР II, який підсилює васкуляризацію ранового ложа у піддослідних тварин.

Таким чином, в ІМБГ НАН України започатковано новий напрям досліджень із репаративної регенерації тканин шкіри із застосуванням стовбурових клітин людини та їхніх похідних. На основі сучасних клітинних біотехнологій створено новий високоефективний в лікуванні опіків продукт – еквівалент дерми, що містить біологічно активний компонент клітинного походження і фармацевтичний композит. Біотехнологічний продукт відрізняється новизною – використанням замість СК їхнього секретому, що містить комплекс біологічно активних сполук, синтезованих клітинами в культурі – і може коштувати приблизно в 10 разів дешевше, ніж закордонні аналоги. Аналіз характеристик цього продукту з використанням модельних тварин засвідчив, що зразки нового еквіваленту дерми є цілком безпечними і можуть бути представлені для проведення подальшої сертифікації у спеціалізованій токсикологічній лабораторії та клінічних випробувань у лікувальних закладах України.

*Дослідження з використанням модельних систем in vitro та in vivo виконували у рамках наукових програм Національної академії наук України і Національного фонду досліджень України. Результати роботи були представлені і знайшли підтримку на засіданні Президії НАН України 05.10.2022 та на конференції НФДУ 26.07.23.*

---

**ЛЮБИНСЬКИЙ О. І.**

*Кам'янець-Подільський національний університет імені Івана Огієнка,  
м. Кам'янець-Подільський, Україна  
e-mail: lubin.alex@gmail.com*

**ІННОВАЦІЙНІ АСПЕКТИ ЗБЕРЕЖЕННЯ ГЕНЕТИЧНОГО РЕСУРСУ БІОРІЗНОМАНІТТЯ**

Проблема збереження вітчизняного генетичного ресурсу біорізноманіття стала надзвичайно актуальною та важливою в контексті національної безпеки держави.

Збереження та збалансоване використання біорізноманіття регламентується «Конвенцією про охорону біологічного різноманіття», яку ратифіковано Законом України від 29 листопада 1994 року № 257/94-ВР. Відповідно до програми реалізації Конвенції 18-20 жовтня 2010 р. приймається Нагойський протокол регулювання доступу до генетичних ресурсів і спільного використання, тобто спільного використання на справедливій і рівноправній основі вигод від застосування у народному господарстві генетичних ресурсів. Нагойський протокол забезпечує більш чітку правову визначеність і підвищує прозорість як для постачальників, так і для користувачів генетичних ресурсів. Він допомагає гарантувати спільне використання вигод, особливо в разі, коли генетичні ресурси вивозяться з країни, яка їх надає. Підвищуючи правову визначеність і заохочуючи міждержавне спільне використання вигод, протокол стимулює просування наукових досліджень у галузі генетичних ресурсів, що може призвести до нових відкриттів, а також створює стимули до збереження і сталого використання біорізноманіття планети.

На сучасному етапі важливими є такі інноваційні підходи щодо збереження генетичного ресурсу біорізноманіття:

- Збереження рослинних генетичних ресурсів як природного, так і антропогенного походження у вигляді банків ДНК;
- Одномолекулярний поліморфізм (SNPs) при проведенні генотипізації (створення генетичного паспорта) рослин;
- Сприяння глобальному економічному розвитку та одночасне зберігання національного регіонального біорізноманіття;
- Збирання, збереження, ізоляція, зберігання, управління базами даних та обмінними ДНК рослин.

У селекції тварин:

- впровадження на практиці провідних сільськогосподарських підприємств маркер-асоційованої селекції (MAS-селекції);
- ідентифікація особин, визначення генотипу, породної належності, походження за спектром мікросателітних локусів ДНК, затверджених міжнародними організаціями ISAG, ICAR;
- визначення прихованих генних аномалій великої рогатої худоби шляхом проведення ДНК-діагностики;
- цитогенетичний аналіз для вивчення мутабельності геному у тварин;
- оцінка генетикопопуляційної ситуації, генетичних відмінностей на внутрішньовидовому, міжвидовому та індивідуальному рівні за використання методу ISSR-PCR;
- молекулярно-генетичний моніторинг систем інформативних ДНК маркерів у технологіях ISSR, RAPD бджільництва.

У загальному аспекті: створення національного банку генофонду біорізноманіття держави як окремого елемента системи біобезпеки та біозахисту у контексті протидії загрозам біологічного характеру національній безпеці України.

## МІКРОБІОМ ГНІЗД ОС РОДУ *SCELIPHRON* KLUG, 1801

Представники ряду Перетинчастокрилі (Hymenoptera), а саме осі є важливою екологічною групою комах, невід'ємною частиною майже усіх екосистем та трофічних ланцюгів. Проте незважаючи на важливість ос, на території України вони є недостатньо вивченою групою комах, зокрема й деякі особливості біології представників роду *Sceliphron* Klug, 1801. У світовій фауні цей рід (родина Sphecidae) представлений 35 видами, з яких в Україні зареєстровано шість: *Sceliphron destillatorium* (Illiger, 1807), *Sceliphron spirifex* (Linnaeus, 1758), *Sceliphron madraspatanum* (Fabricius, 1781), *Sceliphron curvatum* (Smith, 1870), *Sceliphron caementarium* (Drury, 1773), *Sceliphron deforme* (F. Smith, 1856).

Бактерії, а особливо представники класу *Actinomycetia*, здатні продукувати широкий спектр біологічно активних речовин. Тому, досить часто комахи створюють симбіоз з актиноміцетами, при якому останні допомагають у гігієні гнізда або колонії, продукуючи антимікробні сполуки. Оскільки осі на деяких стадіях розвитку (яйце, личинка та лялечка) є вразливими до впливу чужорідних мікроорганізмів, нас зацікавили механізми захисту потомства та провізії всередині гнізда. З огляду на це метою нашого дослідження було вивчення мікробіому гнізд пелопея звичайного *Sceliphron destillatorium* та пелопея вигнутого *Sceliphron curvatum*. Для цього здійснювали посів як з внутрішньої поверхні гнізда, так і гомогенізованого матеріалу гнізда на 4 середовища (LB-агар, R2A, MS, HVA), після чого чашки інкубували при 30°C впродовж 30 днів.

Усього виділено 61 ізолят з гнізд *S. curvatum* (39 з матеріалу гнізда та 22 з внутрішньої поверхні) та 23 ізоляти з гнізд *S. destillatorium* (14 з матеріалу гнізда та 9 з внутрішньої поверхні). Для визначення родової приналежності бактерійних ізолятів проведено секвенування гена 16S рРНК. У результаті ідентифікації виявлено представників наступних родів: *Bacillus* (16), *Peribacillus* (5), *Lysinibacillus* (1), *Priestia* (8), *Rosellomorea* (4), *Streptomyces* (14), *Micromonospora* (8) та *Nocardiopsis* (4). При цьому *Bacillus* був домінуючим як для пелопея звичайного, так і пелопея вигнутого. Цікаво, що при посіві як з внутрішньої поверхні, так і матеріалу гнізда *S. curvatum* на різні середовища відзначалося переважання колоній представників роду *Streptomyces* та *Nocardiopsis*, у той час, як для *S. destillatorium* такого не відмічалось.

З метою оцінки антибіотичної активності отриманих ізолятів ми використали такі тест-культури: *Pseudomonas putida* KT 2440, *Kocuria rhizophila* DSM 348, *Bacillus subtilis* ATCC 31324, *Mycobacterium smegmatis* DSM 43286, *Erwinia persicina* DSM 19328 та *Debaryomyces hansenii* VKM Y-9. Значна частина актиноміцетних ізолятів продемонструвала активність проти *K. rhizophila* та *D. hansenii*.

Подальше дослідження мікробних угруповань, асоційованих з *S. curvatum* та *S. destillatorium*, дозволить краще зрозуміти як ці осі підтримують гігієну гнізда і які мікроорганізми можуть впливати на здоров'я ос на різних стадіях розвитку.

ПІРКО Я. В.<sup>1\*</sup>, КОЗУБ Н. О.<sup>1,2\*</sup>, СОЗІНОВ І. О.<sup>2</sup>, КАРЕЛОВ А. В.<sup>1</sup>, СОЗІНОВА О. І.<sup>1,2</sup>, ІВАЩУК Б. В.<sup>1</sup>, ФЕДАК ДЖ.<sup>3\*</sup>, ЄМЕЦЬ А. І.<sup>1\*</sup>, БЛЮМ Я. Б.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> ДУ «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН України», вул. Байди-Вишневецького, 2а, м. Київ, 04123, Україна;

<sup>2</sup> Інститут захисту рослин НААН, вул. Васильківська, 33, Київ, 03022, Україна;

<sup>3</sup> Eastern Cereal and Oilseed Research Centre, Agriculture and AgriFood Canada, Ottawa, Ontario, K1A 0C6, Canada

\*e-mail: natalkozub@gmail.com; yaryp1@gmail.com; george.fedak@AGR.GC.CA; yemets.alla@gmail.com; cellbio@cellbio.freenet.viaduk.net

## ОЗИМІ ЛІНІЇ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ З ГЕНОМ СТІЙКОСТІ ДО СТЕБЛОВОЇ ІРЖІ *Sr33* НА ОСНОВІ УКРАЇНСЬКОГО КОМЕРЦІЙНОГО СОРТУ ПШЕНИЦІ МИРХАД

Стеблова іржа, збудником якої є дводомний гриб *Puccinia graminis* Pers. – небезпечна хвороба пшениці, втрати від якої можуть становити до 50 %. Одним із генів, що забезпечує стійкість до більшості поширених рас стеблової іржі, включно з Ug99, є ген *Sr33*. Для створення озимих ліній пшениці м'якої з геном *Sr33* вихідною батьківською формою був озимий сорт Мирхад, а як джерело гена стійкості *Sr33* було використано канадську яру лінію пшениці DH31. Для ідентифікації алелів гена *Sr33* застосовували молекулярний маркер *Sr33A* розроблений нами раніше [Івашук та ін., 2018]. Для характеристики батьківських форм за локусами запасних білків проводили електрофорез гліадинів у кислому середовищі в поліакриламідному гелі та SDS-електрофорез загального білка. Уточнення присутності алеля *Glu-B1a1* здійснювали за допомогою молекулярного маркера MAR. Аналізували ознаки продуктивності 213 колосів F<sub>5</sub> з родин, що походять від окремих колосів F<sub>3</sub> з наявністю гена *Sr33* і без нього.

За допомогою електрофорезу білків зерна охарактеризовано алелі локусів *Gli-1* та *Glu-1* лінії DH31, а також похідних ліній DH31 x Мирхад. За допомогою маркера *Sr33A* ідентифіковано носіїв гена *Sr33* при аналізі ДНК суміші зерен з колосів F<sub>3</sub> DH31 x Мирхад. Згодом аналогічне тестування насіння було проведено у поколінні F<sub>5</sub>. Таким чином валідовано маркер *Sr33A* як достатньо зручний для виявлення присутності послідовності, асоційованої з алелем стійкості гена *Sr33*, і, як наслідок, відібрано лінії F<sub>5</sub>, що містять такі алелі. Порівняння середніх значень ознак продуктивності для колосів з родин, що не розщеплюються в F<sub>5</sub> за присутністю маркера, та без нього не показало істотних відмінностей між двома групами генотипів. Це вказує на те, що присутність інтрогредованого гена *Sr33* в цілому не знижує ознаки продуктивності колоса. Таким чином, озимі лінії F<sub>5</sub> з геном *Sr33* від схрещування DH31 × Мирхад можуть бути використані у подальшій селекційній роботі для створення сортів із конкурентною продуктивністю, високими хлібопекарськими властивостями борошна та стійкістю до стеблової іржі.

Робота була виконана в рамках проекту НФДУ 2021.01/0313 «Створення генотипів пшениці м'якої з генами стійкості проти високопатогенних рас стеблової іржі з використанням молекулярних маркерів як запорука харчової безпеки України».

## ВИВЧЕННЯ СТРУКТУРИ ГЕНІВ СТІЙКОСТІ ДО БОРОШНИСТОЇ РОСИ У ЛІНІЙ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ З ІНТРОГРЕСІЯМИ ВІД *Amblyopyrum muticum*

Аллогексаплоїдна пшениця є одним з видів, який потребує постійного збагачення на гени стійкості до грибних патогенів. З метою поліпшення сортів пшениці, яка культивується, за ознакою стійкості здійснюють перенесення хромосом, їхніх сегментів чи послідовностей ДНК [Antonyuk et al., 2022]. Одним з найбільш поширених грибних захворювань у вологому та напівконтинентальному кліматі є борошниста роса, яку викликає *Blumeria graminis* sp. *tritici* (*Bgt*). Гени стійкості та аналоги генів стійкості (*RGA*) у рослин мають консервативні послідовності, які кодують домени з сайтами зв'язування нуклеотидів, збагачені на повтори лейцину (LRR), кіназоподібні, каталітичні домени серин/треонін кіназ, інтерлейкін-1 рецептор асоційовані кіназні домени [Sekhwal et al. 2015].

У дослідженні використовували сорти пшениці м'якої (AABBDD, 2n = 42) Тіра, Панна, Лелека, Одеська 267 селекції СГП НААН, Аврора (Краснодарський НДІСГ), стійкий до *Bgt* геномно-заміщений амфідиплоїд Авротіка (AABBTT, 2n = 42), гексаплоїдні чужинно-заміщені лінії, похідні Авротіки, які характеризуються стійкістю протягом кількох років спостережень. Для ідентифікації послідовностей, пов'язаних зі стійкістю, використовували дев'ять праймерів до консервативних регіонів, послідовності яких взяті з літературних джерел або ж створені у лабораторії раніше. До генів *Pm2*, *Pm3*, *Pm8*, *Pm21*, *Pm24*, *Pm41* розроблені 16 пар праймерів з використанням програмного забезпечення Primer3. Попередньо відібрали гени за допомогою бази даних GenBank, які раніше секвеновані, охарактеризовані за типом стійкості, яку вони забезпечують, та продуктами цих генів.

Ідентифіковано послідовності, які є специфічними для послідовностей генів *Pm2*, *Pm3*, *Pm21*, *Pm41*. Амфідиплоїд Авротіка та його лінії, сорти пшениці м'якої мають різні електрофоретичні спектри продуктів ампліфікації та переважно характеризуються наявністю або відсутністю основного компонента спектра. Найбільш варіабельними є послідовності, які кодують LRR, що спостерігали у випадку використання праймерів, до ділянки гена *Pm3*, коли крім основного компонента в спектрі, у низки ліній Авротіки був додатковий меншою молекулярною масою. Одна з ділянок *Pm3*, яка кодує LRR, ймовірно, зазнала змін у послідовності в результаті інтрогресивної гібридизації, оскільки ідентифікувати її з розробленими праймерами не вдалося. Відмінності у результатах між різними генотипами можна пояснити і алельним рядом, що характерно для генів *Pm2*, *Pm3*, *Pm21*. У складі досліджуваних геномів не було знайдено ділянки *Pm24*, які кодують різні частини домену з протейніназою активністю.

Для пошуку поліморфізму між досліджуваними генотипами за допомогою методикою RGAP [Chen et al., 1998] використали поєднання пар вироджених праймерів до генних ділянок, які кодують різні домени білків стійкості. RGAP-спектри чужинно-заміщених ліній відрізняються від спектрів батьківських генотипів (амфідиплоїд Авротіка та сорт Аврора) та сортів пшениці м'якої, з якими лінії схрещуються у якості джерела генів стійкості. Це відкриває можливості вивчення змін в послідовностях генів стійкості інтрогресивних ліній за методикою RGAP через комбінування створених праймерів до консервативних послідовностей секвенованих генів з залученням ДНК рослин з популяцій, які розщеплюються за ознакою стійкості до борошнистої роси.

## **РЕЗУЛЬТАТИ ІНТРОГРЕСИВНОЇ ГІБРИДИЗАЦІЇ Є НАСЛІДКОМ ВЗАЄМОДІЇ ГЕНОМІВ**

Сучасне поняття результату інтрогресивної гібридизації потребує перегляду. Традиційно інтрогресія розглядалась на фенотипному рівні як прояв ознаки інтересу на каріотипному рівні, який розглядався як доказовий. Тепер залучається також рівень послідовності ДНК, тобто генетичний. Опис інтрогресій на всіх рівнях часто не підкріплюється доведенням зв'язку між ознакою фенотипу і зафіксованою зміною у генотипі інтрогресивного походження. Зміна підходу до розгляду результату інтрогресивної гібридизації визначилась після оформлення поняття епігенетика. З визнаних механізмів епігенетичного впливу на експресію генів для продуктів інтрогресивної гібридизації зафіксовано метилювання ДНК [Dong et al., 2006, Ian et al., 2023], участь некодувальних РНК [Hou et al., 2018, Wang et al., 2017, Cao et al., 2022], участь транспозонів у внутрішньогеномних та міжгеномних молекулярних процесах [Dareen et al., 2021, Catlin et al., 2022]. Внутрішньогеномними є процеси, які відбуваються у резидентному (реципієнтному) геномі. Міжгеномними є процеси, у реалізації яких задіяні елементи як резидентного, так і чужинного геномів, перш за все на рівні їхніх первинних продуктів – транскриптів. Початок вивчення взаємодії між геномами, які зводяться разом у гібридному геномі, було покладено при вивченні аллополіплоїдів і це датується першим десятиріччям 21 сторіччя [Chen et al., 2007]. Новий інтерес до аллополіплоїдів було викликано новими методиками, пов'язаними з необмеженими можливостями секвенування геномів, доступністю аналітичного вивчення транскриптомів [Liu et al. 2020]. Використовували моделі щойно створених поліплоїдів і оцінювали адитивність експресії генів, притаманних кожному з геномів, які утворили гібрид у термінах збереження послідовностей ДНК, транскрипції генів, збереження повторів в тому числі транспозонів [Jaakov et al., 2012, Ning et al., 2014]. Спочатку розглядали суто генетичні зміни у гібридних геномах після об'єднання вихідних геномів в один [Hinterberger et al., 2022]. Швидко стало зрозумілим, що головними механізмами, які забезпечують феноменологічну сутність неадитивності експресії генів, коли самостійні раніше геноми об'єднуються в один, є механізми епігенетичні [Orantes-Bonilla et al., 2022]. Отже, результат інтрогресії тепер не може розглядатися просто як перенесення у резидентний геном чужинного хроматину. Цей результат може виражатися у впливі чужинного хроматину, навіть тимчасового, на резидентний геном. Поява ознаки, яку ми вважаємо фенотипним проявом чужинного хроматину, може бути зумовлено зміною експресії генів резидентного геному. А роль чужинного матеріалу полягає в забезпеченні взаємодії геномів, результатом якої може стати зміна експресії власних генів резидентного геному [Guo et al., 2023, Wang et al., 2022]. Можливо це і є головним наслідком взаємодії різних геномів і навіть їхніх частин, якщо гібридний геном об'єднує не повні геноми, – поява новітніх для реципієнтного виду ознак [Zhang et al., 2016, Sestili, 2020]. Іноді такі ознаки стають новітніми для обох компонентів схрещування [Yang et al., 2012]. Гібридний геном характеризується нестабільністю [Wang et al., 2009, Lv et al., 2022]. Ця нестабільність визначається саме взаємодією між окремими геномами чи їхніми частинами. І стає джерелом нової мінливості, яка може бути на генетичному рівні, тобто рівні послідовності нуклеотидів. Та епігенетичному рівні, коли формуються нові умови експресії генів, чужинних чи резидентних, саме через наявність у одному гібридному геномі, геномів, які належали різним біологічним видам.

### **ВІД АКАДЕМІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ДО ПРАКТИЧНОЇ МЕДИЦИНИ**

Основна мета цієї доповіді – надати дані про те, як академічні дослідження потенційно можуть бути використані в практичній медицині. У зв'язку з цим розглядаються два підходи: а) використання отриманих експериментальних даних для розробки терапевтичних підходів до конкретних нозологічних форм і б) їх використання як діагностичних і прогностичних факторів. У роботі розглянуто одну нозологічну форму – хронічний мієлоїдний лейкоз. На основі отриманих даних про основний етіологічний фактор розвитку захворювання – онкопротеїн BCR-ABL та його взаємодію з клітинними білками, які беруть участь у патогенезі, зокрема з протеазою Usp1, було випробувано специфічний інгібітор цього ферменту. Доведено, що при його застосуванні знижується кількість онкобілка в клітині. Наявність нетоксичних фармакопейних аналогів подібної дії передбачає можливість їх терапевтичного застосування. Крім того, на основі аналізу літературних даних, виходячи з патогенезу захворювання, вітамін Е перевірено як фактор, що сприяє диференціації мієлоїдних клітин. Показано, що в культурах бластних клітин ХМЛ, невиліковного хворобливого стану, препарат індукує появу маркерів диференціації та сприяє регресії епітеліально-мезенхімальних факторів переходу. Крім того, він зменшує побічні ефекти іматинібу, препарату першої лінії лікування ХМЛ. Необхідність його використання в клінічних умовах очевидна. У доповіді і також наведено дані щодо розробки протоколів діагностики різних нозологічних форм мієлопроліферативних, уrogenітальних та імунологічних захворювань. Ці протоколи захищені відповідними патентами та частково перевірені в клінічній практиці.

---

**КОРНЕЛЮК О.І.**

*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ, Україна*

*E-mail: kornelyuk@imbg.org.ua*

## **ПРОСТОРОВА СТРУКТУРА ТА КОНФОРМАЦІЙНА РУХЛИВІСТЬ ЦИТОКІНА ЕМАР II У РОЗЧИНІ**

Поліпептид ЕМАР II (ендотеліальний та моноцит активуючий поліпептид II) є багатофункціональним білком з різними функціональними активностями, зокрема цитокіновою активністю та здатністю зв'язувати тРНК як С-кінцевий домен білка-попередника – поліпептида АІМР1/р43. Незважаючи на наявність кількох кристалографічних структур ЕМАР II, доступних у РДВ, є питання щодо кореляції між кристалографічною структурою цього білка та його структурою в розчині. Крім того, важливим є вивчення функціональної ролі внутрішньомолекулярної динаміки білка. Нами проведено визначення просторової структури ЕМАР II в розчині методами мультимірної ЯМР-спектроскопії та охарактеризована його внутрішньомолекулярна динаміка. Проведений аналіз основних процесів молекулярної динаміки ЕМАР II у розчині за допомогою даних магнітної релаксації  $^{15}\text{N}$  (R1, R2,  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  ядерний ефект Оверхаузера), отриманих у магнітному полі 11,7 Тл. Дані релаксації були проаналізовані за формалізмом ModelFree та проведено порівняння результатів з даними комп'ютерного моделювання молекулярної динаміки для часових траєкторій МД в інтервалі 100 нс. Встановлено, що просторова структура ЕМАР II в розчині подібна до його кристалографічної структури. Проте у розчині виявлена висока конформаційна рухливість РНК-зв'язуючого мотиву 122NPKKKEW128 на поверхні білка. Висока конформаційна рухливість РНК-зв'язуючого мотиву приводить до різних орієнтацій залишку Trp128 та його експонування на поверхні білка, що вірогідно забезпечує формування специфічного центра зв'язування РНК.

## МОЛЕКУЛЯРНА ОРГАНІЗАЦІЯ МІЖГЕННОГО СПЕЙСЕРА 5S рДНК ДЕЯКИХ ВИДІВ РОДУ *GENTIANA* L.

Тирлич (*Gentiana* L.) – типовий рід родини Gentianaceae Juss., який включає близько 400 видів, є складним у систематичному відношенні таксоном. Питання обсягу роду, систематичної цінності ознак, ступеня їх мінливості та таксономічного статусу окремих поліморфних видів залишаються остаточно невирішеними. Цим пояснюється відсутність загально визнаної системи даного роду до цього часу. Останні кілька десятиріч для таких досліджень використовують молекулярно-генетичні маркери. Зокрема широкого використання набули хлоропластні послідовності та ділянки внутрішніх транскрибованих спейсерів (ВТС) 35S рибосомної ДНК. Втім, такий підхід може давати суперечливі результати, що обумовлено різною швидкістю еволюції різних ділянок геному. Залучення до таких досліджень ділянки міжгенного спейсера (МГС) 5S рДНК дозволить краще зрозуміти філогенію окремих таксонів роду *Gentiana*.

Об'єктом дослідження слугувала 5S рДНК рослин п'яти видів тирличів, які відносяться до різних секцій та відрізняються за морфологією, анатомією, умовами зростання та ін. Зразки *G. acaulis*, *G. asclepiadea*, *G. lutea*, *G. pneumonanthe* та *G. punctata* були відібрані з природних місць зростання в Україні. Для порівняльного аналізу використали також послідовності МГС 5S рДНК інших видів роду *Gentiana* з бази даних GenBank.

Ділянка міжгенного спейсера генів 5S рДНК п'яти досліджених видів роду *Gentiana* флори України представлена одним варіантом повторів і містить типові для інших родин покритонасінних рослин мотиви, зокрема консервативний оліго-dT мотив на початку МГС, який відіграє роль ділянки термінації транскрипції, та АТ-багату ділянку, що передує кодувальному регіону, водночас консервативний GC-елемент в ділянці ініціації транскрипції замінений на динуклеотид AC. Аналіз 16 європейських та азійських видів роду *Gentiana* показав, що МГС 5S рДНК характеризується значним міжвидовим поліморфізмом, що може бути використано для уточнення філогенетичних відносин між представниками роду *Gentiana*. У більшості досліджених видів відмічено тенденцію до збільшення довжини МГС: лише в одного виду вона становить трохи більше 200 п.н., тоді як у решти – від 300 до 500 п.н.

Результати порівняльного аналізу нуклеотидної послідовності МГС загалом узгоджуються з загальноприйнятими уявленнями про систематику роду за винятком виду із спірним таксономічним положенням *G. asclepiadea*. Цей вид на сьогодні не має чітко визначеного таксономічного положення. Тривалий час *G. asclepiadea* включали до секції *Pneumonanthe*, однак основне хромосомне число цього виду не відповідало такому решти видів секції. На основі результатів аналізу послідовностей ядерних (ВТС 35S рДНК) та пластидних (*atpB-rbcL*, *trnL-F*) генів він був віднесений до секції *Gentiana*. Водночас, зважаючи на морфологічні особливості, систематики пропонують виділити *G. asclepiadea* у монотипову секцію. За нашими результатами, ідентичність ділянки МГС 5S рДНК *G. asclepiadea* та видів *G. lutea* і *G. punctata* становить 82 і 83 %, що свідчить про близькість цього виду до представників секції *Gentiana*.

Загалом, отримані вказують на те, що еволюція МГС 5S рДНК досліджених азійських та європейських видів роду Тирлич відбувалася незалежно в різних напрямках впродовж тривалого періоду, наслідком чого стала значна їх дивергенція за цією ознакою.