

THE EPICUTICULAR WAXES COMPOSITION OF WOODY PLANT LEAVES DEPENDS ON THE LEVEL OF LIGHTING IN TREE CROWN

LYKHOLAT T.Y., MARENKOV O.M., ALEXEYEV A.A., KHROMYKH N.O., LYKHOLAT Yu.V.
OLES HONCHAR DNIPRO NATIONAL UNIVERSITY, UKRAINE;
e-mail: Lyktata89@ukr.ukr

Increase in the solar radiation and temperature due to climatic changes involve a risk of overheating the surface of plant leaves and excessive water loss. The cuticle is a reliable barrier to the restriction of non-stomatal transpiration, which is largely determined by the waxes composition. Cuticular waxes are represented by two layers: the intracuticular waxes integrated into cutin, and the external epicuticular waxes, which play an important role in self-cleaning of leaves and light reflection. The aim of the work was to test the hypothesis that adaptation of plants to climate aridity enhancing includes the changes of epicuticular waxes composition.

The research objects were sun-adapted and shadow-adapted leaves of woody plants of the genera *Ulmus* L. and *Tilia* L. The epicuticular waxes were extracted by immersing the sheet cuttings in chloroform for 30 seconds, followed by removal of solvent. The extracts were analyzed using a Shimadzu 2010 PLUS GC equipped with a flame ionization detector and an SP-2560 capillary column. The content of the individual components in the epicuticular wax composition was expressed as a percentage of the total.

Significant differences in the accumulation of wax deposits on the surface of leaves with different illumination in the tree crown, as well as the features of the component composition of epicuticular waxes were established. Thus, amount of wax deposits on the surface of sunned leaves exceeded the wax mass on

shaded leaves: 2.6 and 1.6 times (respectively, for *U. minor* and *U. pumila*), as well as 1.5–1.8 times for species of the genus *Tilia*. The greatest amount of the epicuticular waxes was on leaves of *T. platyphyllos* both under shading and illumination (11.0 and 17.6 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, respectively). The epicuticular waxes of all studied leaves contained the long-chain hydrocarbons represented by free fatty acids, aldehydes, alcohols and n-alkanes in various proportions.

Epicuticular wax of the shadow-adapted leaves of all tree species contained a noticeable amount of free fatty acids: 10 and 77% (*U. minor* and *U. pumila*), and 12.13 and 47 % (respectively, *T. cordata*, *T. platyphyllos*, and *T. begoniifolia*). At the same time, the epicuticular waxes of sun-adapted leaves were characterized by a reduced content of these components, especially pronounced in *U. pumila*, *T. begoniifolia* and *T. platyphyllos* species (17–36 times). The opposite trend was established for n-alkanes and alcohols, and the total content of these components in the waxes composition of the illuminated leaves increased in all studied species of woody plants (1.2–1.9 times).

Adaptive changes in the cuticle of woody plant leaves under the intensive illumination include an increase in the epicuticular waxes deposition on the leaf surface. The general pattern of changes in the epicuticular waxes composition consisted of the growth of very long chain n-alkanes amount simultaneously with a sharp decrease in the free fatty acids content.

IRE1-ЗАЛЕЖНИЙ ХАРАКТЕР ГІПОКСИЧНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ ЕКСПРЕСІЇ ПРОПРОЛІФЕРАТИВНИХ ГЕНІВ У КЛІТИНАХ ГЛІОМИ

ЛУЗИНА О.Я., ЦИМБАЛ Д.О., МІНЧЕНКО Д.О., ЛАГАНОВСЬКА Ю.О., МІНЧЕНКО О.Г.
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ;
e-mail: olg.luzina@gmail.com

Гіпоксія є одним із ключових факторів зляклого росту. За дії різних токсичних речовин, гіпоксії, дефіциту чи надлишку глюкози або амінокислот в ендоплазматичному ретикулумі (ЕР) накопичуються незгорнуті чи неправильно згорнуті протеїни і активуються сенсорно-сигнальні шляхи стресу ЕР, серед яких IRE1 (Inositol Requiring Enzyme-1) є ключовою сенсорно-сигнальною системою стресу ЕР.

Метою даного дослідження було дослідити експресію генів, що кодують важливі протеїни, які мають відношення до росту пухлин (*ATF6*, *CLU*,

ADGRE5, *TGM2*, *LIF*, *GLO1*, *TSPAN13* і *EIF2AK3*), у клітинах гліоми лінії U87 за умов пригнічення сигнального ензиму IRE1 та гіпоксії.

В цьому дослідженні ми використовували су-блінії клітин гліоми лінії U87, стабільно трансфіковані dnIRE1 конструкцією (без кіназного та ендорибонуклеазного домену) або порожнім вектором (в якості контролю). Для експериментів із гіпоксією клітини поміщали в камеру з 3% кисню. Із клітин виділяли РНК, визначали її концентрацію і спектральні характеристики на спектрофотометрі Nanodrop для оцінки чистоти зразків РНК, проводили

синтез комплементарних ДНК за допомогою зворотних транскриптаз та кількісну полімеразну ланцюгову реакцію. Статистична обробка експериментальних даних здійснювалась за *t*-критерієм Стьюдента.

Встановлено, що пригнічення ензиматичної активності сигнального ензиму IRE1 у клітинах гліоми виражено знижує рівень експресії генів *ATF6* (activating transcription factor 6), *CLU* (clusterin), *ADGRE5* (adhesion G protein-coupled receptor E5), *TGM2* (transglutaminase 2, C polypeptide), *LIF* (leukemia inhibitory factor), *GLO1* (glyoxalase I) та *TSPAN13* (tetraspanin 13) порівняно з контрольними клітинами, трансфікованих порожнім вектором. Було також показано, що в клітинах гліоми за умов гіпоксії рівень експресії генів *PSAT1*, *TSPAN13*, *EIF2AK3* (eukaryotic translation initiation factor

2-alpha kinase 3) та *TGM2* підвищується, тоді як експресія гена *ATF6* знижується. В той же час, рівень експресії генів *LIF*, *CLU* та *ADGRE5* за умов гіпоксії істотно не змінювався. Разом з тим, пригнічення сигнального шляху IRE1 модифікувало ефект гіпоксії на рівень експресії більшості досліджених генів, що можливо причетне до зниження інтенсивності проліферації клітин гліоми без функціональної активності IRE1 сигнального шляху.

Таким чином, отримані результати продемонстрували, що інгібування активності сигнального ензиму знижує рівень експресії більшості досліджених проліферативних генів, а гіпоксія посилює експресію лише половини досліджених генів, знижуючи експресію гена *ATF6*, причому ефекти гіпоксії на експресію більшості досліджених генів залежали від функціональної активності IRE1.

АКТИВНІ ФОРМИ КИСНЮ ЯК ФАКТОР ЗНИЖЕННЯ КІЛЬКОСТІ ЖИТТЄЗДАТНИХ ЯДРОВІСНИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ ЛЮДИНИ ПРИ КРІОКОНСЕРВУВАННІ

МАКАШОВА О.Є., ЗУБОВА О.Л., ЗУБОВ П.М., БАБІЙЧУК Л.О.
ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ НАН УКРАЇНИ, ХАРКІВ;
e-mail: Olena.makashova@gmail.com

В останні роки спостерігається тенденція до широкого використання у клінічній практиці клітин кордової крові (КК). Всезростаюча увага з боку вчених і лікарів призвела до необхідності створення банків, у яких зразки зберігаються в замороженому стані за температури $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом практично необмеженого часу без втрати їх біологічних властивостей. Найбільш широко для кріоконсервування ядровісних клітин (ЯВК) КК використовується проникаючий кріопротектор диметилсульфоксид (ДМСО) у концентраціях $7,5\div 10\%$. Однак кріоконсервування за цими протоколами може призводити до загибелі клітин, що може бути пов'язано, як із прямим впливом фізичних факторів кріоконсервування, так і з розвитком метаболічних порушень, які є наслідком накопичення в клітинах високих концентрацій активних форм кисню (АФК), викликаючи порушення енергетичного стану, пошкодження структурних елементів через перекисне окислення ліпідів, а також пошкодження ДНК, призводячи до розвитку апоптозу/некрозу клітин. Тому метою даної роботи було визначення кількості ЯВК КК людини із надлишковим вмістом АФК, а також вивчення розвитку їх апоптозу під час кріоконсервування в розчинах, які містять ДМСО.

У роботі були використані наступні методи досліджень: світлова мікроскопія; проточна цитофлуориметрія з використанням флуоресцентномі-

чених моноклональних антитіл (CD45 FITC/CD34PE) та барвників (7AAD, Annexin V FITC, DCFH₂-DA); ЯВК КК виділяли за допомогою поліглюкіну; кріоконсервування проводили зі швидкістю $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ в хвилину до $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, з наступним зануренням до рідкого азоту на програмному заморожувачі Cryosop (Німеччина). У клітинну суспензію вносили 25% -й розчин ДМСО, до кінцевих концентрацій в зразках $5\text{--}10\%$. Статистичну обробку результатів проводили методом Стьюдента-Фішера з використанням програми "Excel" ("Microsoft Office", США), після встановлення нормальності розподілу.

Показано, що процес заморожування-відігрівання ЯВК КК із усіма концентраціями ДМСО, призводив до збільшення кількості клітин із надлишковим вмістом АФК у $2\text{--}2,5$ разів, порівняно з даними, отриманими до кріоконсервування. Високий рівень АФК спостерігався в клітинах, кріоконсервованих під захистом ДМСО у концентрації 5% ($29,5\pm 4,7\%$). Найменша кількість DCF⁺-клітин була отримана після кріоконсервування ЯВК із $7,5$ ($20,6\pm 3,2\%$) та 10% ($21,2\pm 1,9\%$) ДМСО. Аналіз стадій апоптозу/некрозу виявив, що кріоконсервування призводить до пошкодження 30% ЯВК. Більша частина цих клітин характеризувалася зміною цілісності мембрани (при збереженні впорядкованості ліпідів) та фрагментацією ДНК в ядрі, що характерно для клітин, які перебувають на