



# Конференція молодих науковців «Актуальні проблеми біохімії та біотехнології – 2026»

Київ 21 травня, 2026



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



**Конференція молодих науковців  
«Актуальні проблеми біохімії та біотехнології –  
2026»**

Київ 21 травня, 2026

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

ISBN 978-617-95423-6-7



9 786179 542367 >

## ОТРИМАННЯ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТЕЇНАЗИ З ФІБРИН(ОГЕН)ОЛІТИЧНОЮ АКТИВНІСТЮ З КУЛЬТУРАЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА *BACILLUS SP. L9*

Є.А. ГУСЛЄВА<sup>1,3</sup>, О.В. ГУДЗЕНКО<sup>2</sup>, Л.Д. ВАРБАНЕЦЬ<sup>2</sup>, Є.М. СТОГНІЙ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ;

<sup>2</sup>Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України, Київ;

<sup>3</sup>Інститут біохімії імені О.В. Палладіна НАН України, Київ.

E-mail: [gusleva@gmail.com](mailto:gusleva@gmail.com)

**Ключові слова.** Протеїназа, фібрин, фібрин(оген)олітична активність, фібриноген, *Bacillus*.

**Вступ.** Підвищений прокоагулянтний потенціал крові збільшує ризик внутрішньосудинного тромбоутворення. Одним із перспективних терапевтичних підходів для запобігання тромбозам є застосування фібрин(оген)-специфічних протеїназ, здатних впливати на формування тромбу. Фібрин(оген)олітичні ензими бактеріального походження викликають дедалі більший інтерес завдяки їх потенційному застосуванню в медицині (зокрема в антитромботичній терапії), а також в багатьох біотехнологічних процесах.

**Мета.** Метою цього дослідження було виділити та очистити протеїназу з супернатанту культуральної рідини *Bacillus sp. L9*, охарактеризувати її фізико-хімічні властивості та вплив на молекулу фібриногену.

**Методи.** Фібриноген був отриманий з плазми крові людини. Клітини *Bacillus sp. L9* були відокремлені від культурального середовища центрифугуванням. Протеїни з супернатанту були осаджені з використанням амонію сульфату, після чого отримана фракція протеїнів була розчинена в Tris-HCl буфері та нанесена на колонку, заповнену нейтральною смолою TSK-Toyopearl HW-65F, для подальшого очищення. Молекулярна маса протеїнів визначалась за допомогою SDS-PAGE, та протеолітична активність – методом ензим-електрофорезу. Продукти гідролізу фібриногену досліджувались за допомогою Вестерн-блоту з використанням моноклонального антитіла II-5C (анти-A $\alpha$ 20-78). Були досліджені ефекти низки іонів металів на активність ензиму, чутливість до інгібіторів досліджували з використанням EDTA, о-фенантроліну, DTT, L-цистеїну,  $\beta$ -меркаптоетанолу, PCMB, N-етилmaleїміду, EDC, та PMSF.

**Результати досліджень і їх обговорення.** Молекулярна маса протеїнази, отриманої з культурального середовища *Bacillus sp. L9* становить приблизно 40 кДа, специфічна фібриногенолітична та фібринолітична активність становить 483 та 383 U/мг протеїну відповідно. Ензим є кальцій-залежною сериною протеїназою, що проявляє фібрин(оген)олітичну активність та специфічно розщеплює C-кінцеві ділянки A $\alpha$ -ланцюга фібриногену. Досліджена протеїназа має декілька сайтів гідролізу на A $\alpha$ -ланцюзі фібриногену, результуючи продукти з молекулярними масами приблизно 50, 40, та 35 кДа.

**Висновки.** Завдяки здатності протеїнази ефективно розщеплювати молекулу фібрин(оген)у, цей ензим може мати потенціальне застосування в антитромботичній терапії. Специфічно розщеплюючи молекули фібриногену та фібринові депозити у кровотоці, ензим може знижувати прокоагулянтну активність і запобігати тромботичним ускладненням.

**Джерело фінансування.** Роботу виконано в рамках відомчої тематики «Дослідження та пошук способів регуляції молекулярних механізмів внутрішньосудинного та екстрасудинного тромбоутворення» 0124U000251.

**EFFECT OF SULFUR DIOXIDE ON LIPID PEROXIDATION AND PROTEIN NITROSYLATION IN SALIVARY GLANDS OF RATS UNDER THE CONDITIONS OF GENERAL ADAPTATION SYNDROME**

*V. PLETNOV, A. MYKYTENKO*

Poltava State Medical University  
*E-mail: [vadym.pletnov@pdmu.edu.ua](mailto:vadym.pletnov@pdmu.edu.ua)*

**Keywords.** Sulfur dioxide, stress syndrome, salivary glands, oxidative stress, nitrosative stress.

**Introduction.** Oxidative-nitrosative stress in the salivary glands, which occurs under conditions of general adaptation syndrome, disrupts secretion and changes the composition of saliva, which negatively affects the homeostasis of the oral cavity organs. Sulfur dioxide, as an endogenous gas transmitter with antioxidant and anti-inflammatory properties, apparently contributes to the cytoprotection of acini and excretory ducts of the salivary glands under conditions of stress syndrome.

**Aim.** Establish the effect of the SO<sub>2</sub> donor on the production of superoxide anion radical, the content of malondialdehyde, peroxynitrite, and 3-nitrotyrosine in the salivary glands of rats under conditions of general adaptation syndrome.

**Methods.** The experiments were performed on 24 adult male Wistar rats weighing 210-295 g, which were randomly assigned to four groups 6 rats in each. Group I – intact rats; Group II – rats that were daily administered intraperitoneally with the SO<sub>2</sub> donor Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>/NaHSO<sub>3</sub> (0.54 mmol/kg / 0.18 mmol/kg) (Huang X.L., 2013); Group III – rats that on which the general adaptation syndrome according to G. Selye was modeled; Group IV – rats that were intraperitoneally administered the SO<sub>2</sub> donor 30 min before modeling the stress syndrome. The duration of the experiment was 5 days. The object of the study was the submandibular and sublingual salivary glands, in which the production of superoxide anion radical (Kostenko V.O., 2000), the content of malondialdehyde (MDA) (Gerard Monnier, 1998), peroxynitrite (Akimov O.Y., 2016), 3-nitrotyrosine (3-NT) (Gopi A, 2014) were determined. Statistical processing was carried out using a non-parametric method, namely, the Mann-Whitney test.

**Results and Discussion.** Under conditions of chronic immobilization stress modeling, the production of superoxide anion radical in the salivary glands of rats increased by 74.42%, the content of MDA by 60.66%, peroxynitrites by 38.71% and 3-NT by 17.3% in relation to these indicators in animals of the control group (P<0.05). The introduction of the SO<sub>2</sub> donor to the control animals for 5 days led to an increase in the production of superoxide anion radical by 27.91% and a decrease in the content of peroxynitrites by 20.43% and 3-NT by 19.62% in the salivary glands of rats compared to the control (P<0.05). The use of inorganic SO<sub>2</sub> donor 30 min before general adaptation syndrome modeling significantly reduced the production of superoxide anion radical in the salivary glands of rats by 14.67%, the content of MDA by 13.21%, peroxynitrite by 20.54%, and 3-NT by 24.58% compared to the group of rats on which general adaptation syndrome was modeled without correction (P<0.05).

**Conclusions.** Administration of the SO<sub>2</sub> donor Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>/NaHSO<sub>3</sub> (0.54 mmol/kg / 0.18 mmol/kg) under conditions of general adaptation syndrome prevents lipid peroxidation and protein nitrosylation in the salivary glands of rats.

## ВПЛИВ ДЕФІЦИТУ ТІАМІНУ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЇ ВІТАМІНОМ В1 НА ЕКСПРЕСІЮ ГЕНІВ ТА МЕТАБОЛІЧНІ ПОКАЗНИКИ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ

*I.P.СЬОМКА, О.О.МЕЖЕНСЬКА*

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

*E-mail: [somkailya03@gmail.com](mailto:somkailya03@gmail.com)*

**Ключові слова.** Тіамін, авітаміноз, експресія генів, кластер nAXP, LRP4, AGRN, MuSK, DVL1, Wnt-сигнальний шлях, ПЛР у реальному часі, щури.

**Вступ.** Дефіцит тіаміну (вітаміну В1) є важливим патогенетичним фактором розвитку метаболічних і нейром'язових порушень. Порушення енергетичного обміну та функціонування сигнальних шляхів, зокрема Wnt, можуть призводити до змін експресії генів, що беруть участь у формуванні нейрональних та нейром'язових синапсів.

**Мета.** Дослідити вплив нестачі тіаміну та корекції цього стану вітаміном В1 на експресію генів, пов'язаних із нейром'язовою передачею та сигнальними шляхами, а також на біохімічні показники в тканинах щурів.

**Методи.** Використано експериментальну модель авітамінозу тіаміну на щурах. Тварин розподіляли на контрольну дефіцитну групи та групу з корекцією вітаміном В1. Виділення РНК проводили з тканин мозку з подальшим синтезом кДНК. Рівень експресії генів визначали методом кількісної ПЛР у реальному часі, на приладі CX96 Biorad. В якості референсних використовували наступні гени: 18sRNA, TERT та HPRT. Найбільш коректні результати отримали при використанні генів 18sRNA і TERT. При підрахунках з HPRT отримали малодостовірні результати.

**Результати досліджень і їх обговорення.** Встановлено, що дефіцит тіаміну призводить до зниження експресії генів LRP4, AGRN, MuSK та RAPSN, які беруть участь у формуванні постсинаптичного апарату. Водночас спостерігалось підвищення експресії гена DVL1 (на 254,68%), що свідчить про активацію всі типів сигнального шляху Wnt (канонічний, неканонічний та кальцій-залежний). Корекція тіаміном сприяла нормалізації експресії більшості досліджуваних генів. Також відзначено тенденцію до збільшення маси серця при дефіциті тіаміну (+15% від норми), що може свідчити про розвиток гіпертрофічних процесів.

**Висновки.** Недостатність тіаміну супроводжується порушенням експресії генів, що регулюють нейром'язову передачу та сигнальні шляхи клітини. Корекція тіаміном сприяє нормалізації цих процесів, що підкреслює важливу роль тіаміну у підтриманні нормального функціонування організму, зокрема вказує на некоензимні функції вітаміну В1.

## БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ РЕГУЛЯЦІЇ ОКСИДОМ АЗОТУ ОБМІНУ КАЛІЮ В МІТОХОНДРІЯХ ГЛАДЕНЬКОГО М'ЯЗУ МАТКИ

*М.В. РУДНИЦЬКА, Г.В. ДАНИЛОВИЧ, Ю.В. ДАНИЛОВИЧ*

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

*E-mail: [mariaaria@ukr.net](mailto:mariaaria@ukr.net)*

**Ключові слова.** Оксид азоту, обмін  $K^+$ , мітохондрії, гладенькі м'язи.

**Вступ.** Оксид азоту (NO) є універсальною сигнальною і регуляторною молекулою в клітинах. Показано, що NO регулює обмін іонів калію в мітохондріях кардіоміоцитів. Іони  $K^+$  відіграють значну роль у підтримці електричного потенціалу мітохондрій, впливаючи на перебіг метаболічних процесів в матриксі та осморегуляції, а також внутрішньоклітинного  $Ca^{2+}$ -гомеостазу, зміни якого лежать в основі механізмів скорочення-розслаблення гладеньких м'язів, зокрема, міометрія. Наразі актуальним є встановлення взаємозв'язку між активністю транспортних систем, що забезпечують обмін  $K^+$  у мітохондріях гладенького м'язу матки, та синтезом оксиду азоту.

**Мета.** Ідентифікувати системи обміну  $K^+$  та з'ясувати можливість їх регуляції оксидом азоту у мітохондріях гладенького м'язу матки.

**Методи.** Мітохондрії одержували з міометрія невагітних щурів лінії Вістар методом диференційного центрифугування. Всі процедури відповідали Європейській конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей. В дослідженнях застосовували метод спектрофлуориметрії та спектрофлуориметр Quanta Master 40 (РТІ, Канада) з програмним забезпеченням FelixGX 4.1.0.3096 і флуоресцентні зонди:  $K^+$ -чутливий - 10 мкМ RBFI-AM, рН-чутливий - 2,5 мкМ BCECF-AM, NO-чутливий – 5 мкМ DAF-FM.

**Результати досліджень і їх обговорення.** З використанням низки специфічних інгібіторів та активаторів  $K^+$ -каналів в мітохондріях міометрія були ідентифіковані потенціал-керовані (чутливі до 4-амінопіридину),  $Ca^{2+}$ -залежні (чутливі до харібдотоксину та паксиліну) та АТФ-чутливі (інгібуються глібенкламідом)  $K^+$ -канали. Також продемонстровано активність  $H^+/K^+$ -антипортера, чутливого до N,N'-дициклогексилкарбодііміду та хініну, який пригнічувався антитілами проти протеїну Letm1. Вихід  $K^+$  з матриксу збільшувався при закисленні рН середовища в межах 8,0-6,0. Доведено, що мітохондрії міометрія ефективно синтезують NO за наявності 50 мкМ L-аргініну, 100 мкМ  $Ca^{2+}$ , 10 мкМ тетрагідробіоптерину, 10 мкМ NADPH та 125 мМ KCl. За умов зниження концентрації іонів  $K^+$  в середовищі від 150 мМ до 0 мМ спостерігали зменшення інтенсивності синтезу оксиду азоту в мітохондріях. Пригнічення синтезу NO спостерігали також за присутності інгібіторів  $K^+$ -каналів різних підтипів – 4-амінопіридину, харібдотоксину та глібенкламіду. Донори NO (100 мкМ) S-нітрузо-N-ацетилпеніциламін (SNAP) та S-нітрузоглутатіон спричинювали зниження активності  $Ca^{2+}$ -залежних  $K^+$ -каналів, але тільки SNAP пригнічував активність АТФ-чутливих  $K^+$ -каналів. Потенціал-керовані  $K^+$ -канали виявилися резистентними до використаних донорів NO. Втім, у присутності нітропрусиду та нітриту натрію спостерігали стимулювання  $DrH$ -залежного виходу  $K^+$  з матриксу мітохондрій.

**Висновки.** Виявлено функціональний зв'язок між оксидом азоту та системами обміну  $K^+$  в мітохондріях гладеньких м'язів матки. Зокрема, оксид азоту пригнічує транспорт  $K^+$  крізь  $Ca^{2+}$ -залежні та АТФ-чутливі  $K^+$ -канали, але стимулює  $H^+/K^+$ -антипортер.

**Джерело фінансування.** Наукова програма НАН України “Дослідження молекулярних та мембранних механізмів регуляції кальцієвого сигналу в гладеньком'язових клітинах” № 0124U000224.

## ОПОСЕРЕДКОВАНА P2X7-ПУРИНОРЕЦЕПТОРАМИ АТР-ЗАЛЕЖНА МОДУЛЯЦІЯ СПОНТАННОЇ СКОРОЧУВАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ МІОМЕТРІЯ

А. І. ПАНЧЕНКО<sup>1,2</sup>, О. В. ЦИМБАЛЮК<sup>2</sup>, Л. Г. БАБИЧ<sup>1</sup>, С. Г. ШЛИКОВ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Відділ біохімії м'язів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України.

<sup>2</sup>ННІ високих технологій Київського національного університету імені Тараса Шевченка

E-mail: [alionnnaioannnova@gmail.com](mailto:alionnnaioannnova@gmail.com)

**Ключові слова.** Спонтанна скорочувальна активність міометрія, мітохондрії, Ca<sup>2+</sup>, P2X7-пуринорецептори, АТР, UTP, A438079.

**Вступ.** Аденінові нуклеотиди – ключові органічні молекули, що постачають енергію, опосередковують внутрішньоклітинний сигналінг та є проміжними продуктами метаболізму. Раніше ми показали АТР-індуковане збільшення концентрації іонізованого Ca<sup>2+</sup> у матриці мітохондрій міометрія за відсутності екзогенного Ca<sup>2+</sup>. Було висловлено припущення, що цитозольна АТР може відігравати роль сигнальної молекули, яка регулює обмін іонів Ca<sup>2+</sup> у мітохондріях.

**Мета.** Дослідити селективність ефектів АТР, опосередкованих активацією P2X7-пуринорецепторів, на обмін іонів Ca у мітохондріях та спонтанну скорочувальну активність міометрія.

**Методи.** Мітохондрії з міометрія невагітних щурів виділяли методом диференціального центрифугування. Концентрацію Ca<sup>2+</sup> у матриці визначали за допомогою спектрофлуориметра QuantaMaster™ 40 і зонда Fluo-4, AM. Поляризацію мембран мітохондрій реєстрували проточним цитометром DxFLEX. Дані аналізували за допомогою CytExpert. Тензометричні експерименти проводили на мультиклітинних препаратах маткових труб; фрагменти з інтактним ендометрієм забирали з оваріального кінця та нарізали на смужки 2x10 мм. Скорочувальну активність реєстрували в ізометричному режимі за навантаження 10 мН.

**Результати досліджень і їх обговорення.** Додавання АТР або MgАТР до середовища з КСІ супроводжується збільшенням базальної концентрації Ca<sup>2+</sup> у матриці мітохондрій. Встановлено, що іони К посилюють ефекти АТР. Заміна АТР на UTP не змінювала базальну концентрацію Ca<sup>2+</sup>, що свідчить про селективність ефектів. Відомо, що АТР-активовані P2X7-рецептори локалізуються у плазматичній мембрані та мітохондріях. Проте A438079 (10 мкМ), селективний інгібітор P2X7, не впливав на концентрацію Ca<sup>2+</sup> у матриці. Зміни Ca<sup>2+</sup> можуть впливати на поляризацію мембран і навпаки. Показано, що інкубація мітохондрій з MgАТР супроводжується зниженням інтенсивності флуоресценції зонда TMRM приблизно на 50%. Встановлено, що блокування P2X7-рецепторів A-438079 пригнічує АТР-активовані скорочення міометрія: зменшуються амплітуда, площа під скороченнями та зростає швидкість фази розслаблення. Одночасне блокування P2X7-рецепторів і фосфоліпази С має адитивний ефект. Додавання A-438079 на тлі блокування дихального ланцюга (NaN<sub>3</sub>) та фосфоліпази С (U-73122) не впливало на параметри скорочень, що свідчить про незначний внесок популяції цих рецепторів, розташованих у плазматичній мембрані.

**Висновки.** Показано, що пуринорецептори у міометрії невагітних щурів відіграють важливу роль у регуляції скорочувальної активності. Позамітохондріальна АТР сприяє збільшенню базальної концентрації Ca<sup>2+</sup> та зменшенню поляризації мембран мітохондрій. Оскільки блокування P2X7-рецепторів при активному функціонуванні мітохондрій впливає на швидкість розслаблення та площу під скороченнями (і не має ефекту за блокування дихального ланцюга), популяція цих рецепторів у мітохондріях, ймовірно, бере участь у підтриманні здатності міометрія до тривалих тонічних скорочень.

## APPLICATION OF EVERY-OTHER-DAY FEEDING REDUCES ADIPOSITY AND CARBONYL STRESS IN THE LIVER OF CAFETERIA DIET-FED MICE

*M.V. IVANOCHKO, M.M. BAYLIAK, V.I. LUSHCHAK*

Vasyl Stefanyk Carpathian National University, Ivano-Frankivsk, Ukraine

*E-mail: [marian.ivanochko.20@pnu.edu.ua](mailto:marian.ivanochko.20@pnu.edu.ua)*

**Keywords.** Cafeteria diet, protein carbonyls, obesity, intermittent fasting, liver, triacylglycerols.

**Introduction.** Excessive consumption of sweets, fast food, and the so-called “cafeteria diet” (CD) causes metabolic disorders and obesity, accompanied by oxidative stress development. Intermittent fasting is used to decrease body mass in obese adult humans and animals. However, the impact and effectiveness of intermittent fasting or every-other-day feeding (EODF) on middle-aged animals with obesogenic CD was under-researched.

**Aim.** This work aimed to study the effects of intermittent fasting on physiological, metabolic, and antioxidant parameters of mice that consumed a high-calorie cafeteria diet.

**Methods.** Ten-month-old C57BL/6J males were divided into four groups with 3-5 mice each. The Control group consumed a basal diet. The second, third, and fourth groups consumed a cafeteria diet (CD) which consisted of chocolate, biscuits, waffles, crackers, cheese, sausages, crackers, corn sticks, cereals, and peanuts. In the 8th week, the third group began to receive chow every other day (CD+EODF). The fourth group began to receive access to chow only for three hours per day (CD+3HF). After the next six weeks, all mice were euthanised according to bioethics norms. The murine liver was dissected for biochemical analysis.

**Results and Discussion.** Consumption of the experimental diets did not affect the body mass of mice. All three groups with CD consumed a lower amount of chow compared to the Control group. Notably, these mice consumed more water compared to the Control mice. Accumulation of visceral adipose tissue was the highest in CD and CD+3HF groups, indicating the development of a lean but obese phenotype of mice. Mass of visceral fat was similar in the CD+EODF and the Control groups. In addition, the accumulation of triacylglycerols was the highest in the liver of CD mice, suggesting pathological development of fatty liver state, while the CD+EODF value was not different compared to the Control group. The content of protein carbonyls, a marker of oxidative stress, was the highest in the CD group. This parameter was lower in the CD+EODF and CD+3HF groups compared to the CD group. The activity of several antioxidant enzymes, superoxide dismutase, catalase, glutathione S-transferase, and glutathione reductase, had a trend to be lower in all CD-fed mice.

**Conclusions.** Consumption of a cafeteria diet caused visceral adiposity of the liver and carbonyl stress, while application of every-other-day feeding modulated these parameters to values of the control group. These findings indicate a selective positive effect of every-other-day feeding on metabolism and elimination of oxidative stress in the murine liver.

**Funding source.** This research was supported by a grant from the Ministry of Education and Science of Ukraine (#0122U000894) awarded to Volodymyr I. Lushchak.

**Acknowledgment.** The authors are grateful to students I. Labych, I. Yatskiv, V. Balatskyi, and V. Derkachov for assistance during the work. The authors are grateful to the defenders of Ukraine, whose heroic deeds made the preparation of this research possible.

## ЗАСТОСУВАННЯ ГІПОТОНІЧНИХ ТА ГІПЕРТОНІЧНИХ РОЗЧИНІВ ДЛЯ ДЕЦЕЛЮЛЯРИЗАЦІЇ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ

*О.І. ШЕВЧУК<sup>1,2</sup>, К.В. КОТ<sup>1</sup>, В.В. КОРЧЕВА<sup>2</sup>, О.С. ЛАХНО<sup>2</sup>, Д.С. КРАСНЕНКОВ<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Харків;

<sup>2</sup>Інститут геронтології імені Д.Ф. Чеботарьова, Київ.

*E-mail:* [olha.shevchuk@karazin.ua](mailto:olha.shevchuk@karazin.ua)

**Ключові слова.** Децелюляризація, кісткові скафолди, біосумісність.

**Вступ.** Розробка та оптимізація протоколів децелюляризації кісткової тканини є актуальним напрямком досліджень в галузі тканинної інженерії. Отримані кісткові скафолди тваринного походження мають ряд етичних та фінансових переваг, крім того такі імпланти мають перспективні структурні та біохімічні властивості. Для отримання неімуногенних та придатних до ксенотрансплантації скафолдів існує потреба в покращенні та оптимізації існуючих протоколів виробництва. Застосування гіпотонічних та гіпертонічних розчинів є одним із підходів фізичної децелюляризації, що забезпечує осмотичний шок та підвищує ефективність дії детергентів. У даній роботі представлений підхід, що передбачає комбінацію фізичного (осмотичний шок) та хімічного методу із застосуванням Тритон Х-100 – активного компоненту, що утворює пори в клітинній мембрані та полегшувати видалення клітинного компоненту тканин.

**Мета.** Оцінка якості кісткових скафолдів, отриманих після оптимізації поєднаних протоколів фізичної та хімічної децелюляризації.

**Методи.** Губчасту частину стегнової кістки великої рогатої худоби розділено на зразки об'ємом приблизно 1 см<sup>3</sup> та відмито у фосфатно-сольовому буферному розчині протягом ночі (при температурі +4°C) та постійному помішуванні на шейкері (100 об/хв). Після промивки у гіпотонічному розчині (деіонізована вода), зразки піддавалися 12-годинній обробці в 1% або 0.5% розчині Тритон Х-100 з подальшим відмиванням у гіпертонічному розчині (3% NaCl). Ефективність видалення клітин з тканини оцінювали методом кількісного вимірювання залишкової ДНК на основі протоколу виділення фенол-хлороформом. Стандартом, який вказує на ефективну децелюляризацію, вважається вміст екзогенної ДНК менше 50 нг/мг. Для оцінки біосумісності було взято субкутанну модель підшивки зразків самцям віком 23-27 тижнів лінії CD1. На 30/31 день після імплантації проведено розтин та взято мазки крові на аналіз.

**Результати досліджень і їх обговорення.** Результати оцінки залишкової ДНК продемонстрували, що обидва запропоновані протоколи децелюляризації є ефективними. Рівень ДНК після обробки 1% розчином Тритон Х-100 складав 5.22 нг/мг, а після інкубації у 0.5% розчині детергенту – 6.57 нг/мг. Для тестування біосумісності було обрано підхід, що передбачає нижчу концентрацію детергенту, що може корелювати з кращим збереженням позаклітинного матриксу. За результатами розтину, у всіх тварин дослідної групи були відсутні ознаки місцевого некрозу та загального запалення, внутрішні органи не збільшені. Показники кількісного загального аналізу крові (забарвлення за Романовського-Гімза) у мазках в нормі. Загальні показники активності тварин після імплантації зберігались.

**Висновки.** Децелюляризація кісткової тканини на основі осмотичного шоку та застосуванням Тритон Х-100 є перспективною для подальших досліджень. Протоколи продемонстрували ефективне видалення клітинного вмісту та відсутність гострої імунної відповіді на субкутанній мишачій моделі.

## A HIGH-THROUGHPUT SPATIAL SELECTION APPROACH FOR ISOLATING POLY-RESISTANT MICROORGANISMS USING CONTINUOUS AGAR DIFFUSION

I.P. KOSTIUK<sup>1</sup>, V.M. HOVORUKHA<sup>1,2</sup>, A.V. SACHKO<sup>3</sup>

<sup>1</sup> D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the National Academy of Sciences, Kyiv;

<sup>2</sup> Institute of Environmental Engineering and Biotechnology, University of Opole, Opole, Poland;

<sup>3</sup> Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University: Chernivtsi.

E-mail: [Kostiuk\\_Ilia@nas.gov.ua](mailto:Kostiuk_Ilia@nas.gov.ua)

**Keywords:** spatial selection, soil microbiome, high-throughput screening, polymetallic stress, heavy metals, bioremediation.

**Introduction.** Bioremediation requires resilient microbial strains capable of withstanding complex multi-component pollution. Traditional screening methods are resource-intensive and often fail to replicate synergistic polymetallic stress *in situ*. Developing rapid, ecologically relevant platforms to select poly-resistant consortia is a critical biotechnological challenge.

**Aim.** To develop a continuous radial diffusion gradient platform as a High-Throughput Screening (HTS) spatial selector for the rapid isolation of poly-resistant consortia directly from soil microbiomes.

**Methods.** A continuous concentration gradient of a citrate-chelated polymetallic mixture (PR6: Co<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, and CrO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) was established within a 1.5% agar matrix. Controlled radial diffusion from a central well over 72 hours generated a stable chemical gradient, mathematically modeled using Fick's second law and empirically validated via X-ray Fluorescence (XRF) spectrometry. A standardized suspension of a native, unadapted chernozem microbiome was surface-inoculated. Biomass successfully colonizing the maximal inhibition boundary was evaluated for extraction.

**Results and Discussion.** The customized radial agar well diffusion system effectively transcended a standard toxicological assay, functioning as an automated spatial selector for biological resilience. To maximize ecological fidelity, the PR6 mixture was deliberately stabilized via citrate chelation. This formulation accurately replicates real-world soil conditions where heavy metals are frequently bound by organic matter, providing a much more realistic representation of environmental toxicity than conventional free-ion solutions. Crucially, XRF spatial scanning confirmed near-perfect alignment between the theoretical predictive curve and the actual polymetallic distribution, ensuring precise localized dosimetry. By exposing the intact soil community to this continuous 1000 ppm gradient, the system forced an acute ecological selection on a single Petri dish. A dense, stabilized biological front formed at a calculated toxic threshold of  $\approx$  800-700 ppm. The microorganisms colonizing this absolute boundary are not merely random survivors; they have bypassed a rigorous spatial selection process, demonstrating simultaneous resistance to a synergistic attack by six different heavy metals. This physical separation effectively eliminates the need for tedious, multi-step serial subculturing traditionally required to isolate poly-resistant bacteria.

**Conclusions.** The validated platform serves as a rapid tool for determining multi-metal tolerance and generating resistant cultures in a single step. This streamlines the isolation and characterization of strains for targeted use in bioremediation technologies

**Acknowledgement.** The authors thank the Armed Forces of Ukraine (AFU) for ensuring the safety and possibility of conducting research in Kyiv.

## EXTRACTION AND CHARACTERIZATION OF PROTEIN ISOLATES FROM SWEET LUPIN (*LUPINUS ALBUS*)

*M. H. STETS, V. V. HAVRYLIAK*

Lviv Polytechnic National University

*E-mail:* [maksym.h.stets@lpnu.ua](mailto:maksym.h.stets@lpnu.ua)

**Keywords.** *Lupinus sp.*, protein isolate, functional properties.

**Introduction.** Lupin (*Lupinus sp.*) seeds have emerged as a high-protein, underutilized alternative for functional ingredients in food and pharmaceutical formulations. Selecting an extraction strategy requires a careful balance between maximizing protein yield and maintaining the structural attributes necessary for specific functional properties such as solubility.

**Aim.** The aim of the study was to investigate the chemical composition and solubility properties of white lupin seed protein isolates obtained through two preparation methods: alkaline extraction-isoelectric precipitation, and micellization.

**Methods.** *Lupinus albus* (Rhapsody variety) seeds were treated by the method described in El-Adawy et al. (2001). Isoelectric (ILP) and micellar (MLP) lupin protein isolates were produced according to Muraniy et al. (2013). Final powders were treated to 60-mesh fineness. Nitrogen content was established using the Dumas method. Protein yield was expressed as a percentage of total protein recovered from the defatted flour. The spectra of all protein isolates were recorded using Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). Solubility was measured using the Lowry method following the protocol by Bader et al. (2011). Values were calculated as the ratio of soluble protein to total protein (solubilized in 1 M NaOH) and expressed as a percentage.

**Results and Discussion.** Extraction yields were comparable between the two methods ( $42.03 \pm 1.31\%$  for ILP and  $41.28 \pm 1.43\%$  for MLP), though both require further optimization to maximize recovery. A significant disparity in purity was observed, as protein content was: ILP  $79.38 \pm 0.02\%$  vs. MLP  $98.75 \pm 0.04\%$ . According to the classification by Pojić et al. (2018), the ILP produced here is more accurately defined as a protein concentrate. The superior purity of MLP likely stems from enhanced protein–protein associations induced by the reduction in ionic strength during micellization [Muraniy et al., 2013]. The FTIR spectra displayed typical protein absorption features, with distinct peak at  $1640\text{ cm}^{-1}$  confirming the prevalence of  $\beta$ -sheet secondary structures. These findings align with the structural characteristics commonly reported for legume-derived proteins [Carbonaro, Nucara, 2022]. Regarding functionality, solubility for both samples ( $9.57 \pm 0.66\%$  for ILP,  $7.92 \pm 0.67\%$  for MLP) was lower than previously reported values [El-Adawy et al., 2001]. This discrepancy is potentially attributable to the particle size of the protein powder. Because standard protocols often omit post-drying mechanical treatments, such as milling or sieving, due to equipment variations, the influence of secondary milling on enhancing the solubility of these isolates warrants further investigation.

**Conclusions.** While salt extraction is the superior method for achieving high-purity lupin isolates, further optimization of extraction parameters is required to maximize total yields. Future research should specifically investigate the impact of post-drying mechanical processing on the solubility of lupin proteins.

**Funding source.** This research was funded by [HORIZON, EUROPA], grant number 101186662 – Excel4Pro.

## ЛІПОСОМАЛЬНА ТРАНСФЕКЦІЯ КЛІТИН FREESTYLE™ 293-F

*Г.О. ГОЛОВКО, О.В. ВЕЛЬЧИНСЬКА*

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ

*E-mail: [elena\\_wvu@ukr.net](mailto:elena_wvu@ukr.net)*

**Ключові слова:** ліпосомальна трансфекція, клітини FreeStyle™ 293-F, цитометрична оцінка.

**Вступ:** Метод ліпосомальної трансфекції клітин FreeStyle™ 293-F базується на утворенні комплексів між плазмідною ДНК та ліпідним трансфекційним реагентом, що забезпечують ефективне перенесення генетичного матеріалу через клітинну мембрану та подальшу транзйентну експресію цільового гена.

**Мета:** Розробити методику ліпосомальної трансфекції клітин FreeStyle™ 293-F з цитометричною оцінкою трансфекційної ефективності та життєздатності клітин, а також імуноферментним визначенням концентрації мишачого імуноглобуліну.

**Методи:** Проточна цитометрія, флуоресценція GFP як маркер трансфекції, 7-AAD – барвник життєздатності, цитофлуориметрія, імуноферментний аналіз (ELISA).

**Результати досліджень і їх обговорення:** Проведена попередня підготовка клітин FreeStyle™ 293-F до проведення трансфекції з подальшим культивуванням та досягненням робочої концентрації. Підготовлено трансфекційний реагент та окремі розчини плазмідної ДНК і ліпідного реагенту для їх змішування, зформувано трансфекційні комплекси. Після проведення ліпосомальної трансфекції ефективність введення генетичної конструкції та життєздатність клітин оцінювали методом проточної цитометрії. Після оцінки ефективності трансфекції та життєздатності клітин методом проточної цитометрії проводили кількісне визначення мишачого імуноглобуліну (mouse IgG) у дослідних зразках методом імуноферментного аналізу (ELISA).

**Висновки:** Ліпосомальну трансфекцію клітин FreeStyle™ 293-F провели з використанням реагенту FreeStyle™ MAX Transfection Reagent відповідно до рекомендованого протоколу для суспензійної культури клітин. Поєднання методів цитометрії та імуноферментного аналізу (ELISA) дозволило всебічно оцінити результати експресії трансфікованої конструкції та рівень продукції цільового білка.

**Джерело фінансування:** Стажування в Університеті м. Діжон (Франція) за програмою обміну студентів.

## ОЦІНКА ВЕКТОРНИХ СИСТЕМ У *SACCHAROPOLYSPORA ERYTHRAEA* ТА СТВОРЕННЯ НОВОГО РЕПЛІКАТИВНОГО ВЕКТОРА

Я. Р. НОГАЧ<sup>1,2</sup>, В. О. ФЕДОРЕНКО<sup>2</sup>, Ю. В. РЕБЕЦЬ<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, Україна

<sup>2</sup>ТОВ "Експлоджен", Львів, Україна

E-mail: [sidorko668@gmail.com](mailto:sidorko668@gmail.com)

**Ключові слова.** *Saccharopolyspora erythraea*, інтегративні вектори, реплікативні вектори, pYS191, актинобактерії, еритроміцин.

**Вступ.** *Saccharopolyspora erythraea* є важливим промисловим продуцентом еритроміцину та модельним об'єктом для дослідження біосинтезу полікетидів. Незважаючи на це, генетичні інструменти для цієї бактерії залишається обмеженим. Особливо недостатньо вивчені властивості інтегративних і реплікативних векторів, що ускладнює генетичні маніпуляції та створення рекомбінантних штамів.

**Мета.** Оцінити ефективність інтегративних і реплікативних векторів у *Sacch. erythraea* та створити новий ефективний реплікативний вектор для генетичних досліджень.

**Методи.** Використано методи клонування ДНК, міжродової кон'югації, ПЛР, секвенування геному та біоінформатичного аналізу.

**Результати досліджень і їх обговорення.** Інтегративні вектори на основі фC31, фBT1 і VWB ефективно переносяться у *Sacch. erythraea*. Встановлено, що сайти інтеграції для фBT1 і VWB є унікальними, натомість для фC31 – множинними. Виявлено, що інтегративні вектори можуть вирізатися з геному, що вимагає селективного тиску для стабільності.

Реплікативні вектори з поширеними репліконами (pIJ101, pSG5) показали низьку ефективність переносу. Для вирішення цієї проблеми сконструйовано новий реплікативний вектор pYS191 на основі реплікону pJV1. Цей реплікон ефективно переноситься у *Sacch. erythraea* та інші актинобактерії, підтримується з низькою копійністю (2-3 копії на хромосому) та швидко втрачається без селекції.

Не виявлено суттєвого впливу досліджених векторів на продукцію еритроміцину, що підтверджує їх придатність для біотехнологічного застосування.

**Висновки.** Інтегративні вектори є ефективним інструментом для клонування генів у *Sacch. erythraea*, однак потребують селективного тиску. Створений вектор pYS191 є перспективним інструментом для тимчасової експресії генів і геномної інженерії. Отримані результати розширюють генетичний інструментарій для актинобактерій.

**Джерело фінансування.** Робота виконана в рамках проєкту CENtR (BMBF, №01DK24009A) та STCU (P810).

**Подяка.** Автори вдячні John Innes Centre за надані штами та колегам за наукову підтримку.

## РОЗРОБКА ПРОЦЕСУ ЛІОФІЛІЗАЦІЇ ТАQ-ПОЛІМЕРАЗИ

*М.С. БОРОШКО*

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»

*E-mail: [mboroshko@gmail.com](mailto:mboroshko@gmail.com)*

**Ключові слова.** Таq-полімераза, ліофілізація, захисне середовище.

**Вступ.** Таq-полімераза є критично важливим ферментом для проведення ПЛР, що широко застосовується у діагностиці та наукових дослідженнях. Забезпечення стабільності цього ферменту при тривалому зберіганні є важливою біотехнологічною задачею. Одним з ефективних методів стабілізації є ліофілізація, однак її ефективність значною мірою залежить від режиму сушіння та складу захисного середовища, що визначає структурні та функціональні властивості отриманого ліофілізату.

**Мета.** Розробка складу захисного середовища для ліофілізації Таq-полімерази для формування структурно стабільного ліофілізату з оптимальними морфологічними характеристиками.

**Методи.** Дослідження проводиться на базі Лабораторії молекулярної діагностики ННЦ «ІЕКВМ». Таq-полімеразу отримували шляхом культивування генетично модифікованої культури *E. coli*, що містила плазмід із геном ферменту. Після культивування та індукції експресії клітини піддавали лізису з подальшою термічною обробкою (~93 °C) і центрифугуванням для виділення термостабільної фракції. Екстракт змішували із захисним середовищем (трегалоза 10%, пуллулан 1%, гліцин 0,5%) у співвідношенні 1:1 (об'єм 200 мкл). Ліофілізацію проводили у два етапи: первинне сушіння при температурі від -50 °C до 0 °C протягом 12 год, вторинне сушіння при +28 °C протягом 6 год.

**Результати досліджень і їх обговорення.** Встановлено, що застосування комбінованого захисного середовища забезпечує формування структурно стабільного ліофілізату з розвиненою пористою структурою. Трегалоза є ключовим ліопротектором. Вона формує водневі зв'язки з полярними групами білків та запобігає денатурації полімерази, сприяє утворенню склоподібної матриці. Пуллулан виконує структуроутворюючу функцію, підвищуючи механічну міцність «кейку». Гліцин впливає на процеси кристалізації та масопереносу і покращує морфологічні характеристики продукту. В результаті отримано однорідний ліофілізат без ознак колапсу, який демонструє високу здатність до регідратації з утворенням однорідного розчину.

**Висновки.** Запропоноване захисне середовище забезпечує формування морфологічно стабільного ліофілізату Таq-полімерази. Подальші дослідження будуть спрямовані на оцінку активності та стабільності ферменту при зберіганні, а також порівняння різних рецептур ліопротекторів.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИЙ ПІДХІД ДО ВИЯВЛЕННЯ *CANDIDA ALBICANS* ПРИ ПІДОЗРІ НА ГРИБКОВИЙ СЕПСИС

Д.К. ПРОХОРЕНКО, І.І. ГРИНЮК

НТУ України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

E-mail: [pdmytro378@gmail.com](mailto:pdmytro378@gmail.com)

**Ключові слова:** ПЛР в реальному часі, молекулярна діагностика, сепсис, біотехнології.

**Вступ.** Сепсис залишається одним із найтяжчих інфекційно-індукованих синдромів в основі якого лежить реакція організму у вигляді системного запалення, яке становить загрозу для життя. Особливу проблему становить сепсис грибкової етіології, насамперед пов'язаний із представниками роду *Candida albicans*. *Candida albicans* історично зберігає провідне місце у структурі інвазивного кандидозу та кандидемії та визначається здатністю до переходу між дріжджовою та гіфальною формами, біоплівкоутворення та адаптації до різних мікрооточень. Традиційна методи діагностики кандидозу характеризуються обмеженою чутливістю та потребують тривалого часу отримання результату, тому важливою є розробка молекулярно-генетичних підходів, здатних забезпечити швидко та точну діагностику кандидозу.

**Мета роботи** - встановлення оптимального генетичного маркера для диференційної ідентифікації *Candida albicans* методом ПЛР у реальному часі.

**Методи.** Біоінформатичний аналіз проводили з використанням ресурсів NCBI, GenBank і програмного забезпечення SnapGene; специфічність праймерів оцінювали *in silico* за допомогою BLAST. Ампліфікацію ДНК біологічних зразків з кандидозом здійснювали за допомогою ПЛР в реальному часі на системі Bio-Rad CFX96 Touch у двофазовому режимі термоцикування із загальною кількістю 47 циклів.

**Результати досліджень і їх обговорення.** Дані програми SENTRY продемонстрували, що *C. albicans* становить 46,9% серед 20788 інвазивних ізолятів *Candida*, що підтверджує її клінічну значущість у структурі інвазивного кандидозу з найбільшою часткою позитивних зразків у досліджуваній вибірці. За допомогою ПЛР в реальному часі було встановлено, що серед 29 позитивних зразків *Candida spp.* найбільшу частку (20 зразків) становили саме зразки *C. albicans*, тоді як *C. glabrata* виявлено у 7 зразках, а *C. parapsilosis* у 4 зразках. В результаті біоінформатичного аналізу як молекулярну мішень для видової ідентифікації *C. albicans* було обрано ITS1/ITS2-регіон рибосомного кластера. Використання ITS-регіону є найбільш доцільним, оскільки ця мішень є добре вивченою, універсальною для грибкових збудників і придатною для видової диференціації. Для ампліфікації цільової ділянки ITS1/ITS2 методом ПЛР у реальному часі були використані такі специфічні праймери: Forward: 5'-CGTCGTTTCTCCCTCAAACC-3'; Reverse: 5'-AGCCATTGTCAAAGCGATCC-3'. Детекцію продукту ампліфікації проводили із застосуванням гідролізного TaqMan-зонда 5'-FAM-ACCCAAGTCGTATTGCTCAACACCAAAAC-BHQ1-3'

Отримані в ході ПЛР в реальному часі результати перевірки праймерів до фрагмента ITS1/ITS2 показали специфічність до представників роду *Candida albicans*. Аналіз порогових циклів (Ct), а також перевірка синтетичних позитивних контролів зразків дала змогу встановити чутливість даної системи на рівні 10<sup>2</sup> копій ДНК на 1 мл зразку, що дозволяє стверджувати про високу точність досліджень.

**Висновки.** Отже, оптимальним генетичним маркером для диференційної ідентифікації *Candida albicans* є ITS-регіон рибосомного кластера. Застосування специфічного маркера сприятиме ранньому виявленню збудника *Candida albicans* у пацієнтів із підозрою на грибковий сепсис, своєчасному призначенню антигрибкової терапії та зменшенню ризику летальних наслідків.

## РЕКОМБІНАНТНИЙ ОДНОЛАНЦЮГОВИЙ ФРАГМЕНТ АНТИТІЛА, СПЕЦИФІЧНОГО ДО ФІБРИНУ, ЯК ПРОТОТИП АНТИКОАГУЛЯНТНОГО ЗАСОБУ

*І.-М. М. КЛИМКОВИЧ, Р. О. ДЕМЧИНСЬКА, К. В. БАЙДАКОВА*

Інститут біохімії імені О.В. Палладіна НАН України

*E-mail: [ivanna-maria07@knu.ua](mailto:ivanna-maria07@knu.ua)*

**Ключові слова.** Фібрин, полімеризація фібрину, моноклональні антитіла, одноланцюгове антитіло, scFv, рекомбінантна експресія.

**Вступ.** Тромбози залишаються однією з провідних причин інсультів, інфарктів міокарда та тромбоемболічних ускладнень. Сучасні антитромботичні препарати спрямовані на фактори зсідання крові та тромбоцити та спричиняють системний вплив, підвищуючи ризик кровотеч. Натомість, пригнічення полімеризації фібрину дозволяє впливати на тромбоутворення без втручання у попередні етапи коагуляційного каскаду. Фібрин-специфічні антитіла, зокрема антитіло I-3C, здатні інгібувати полімеризацію фібрину та можуть потенційно слугувати основою для розробки нових антитромботичних препаратів.

**Мета.** Отримати рекомбінантний одноланцюговий фрагмент антитіла I-3C (scFv) для подальшого дослідження його антикоагулянтних властивостей.

**Методи.** Гібридомні клітини, що продукують моноклональне антитіло I-3C, культивували у поживному середовищі RPMI. Наявність антитіл у культуральному середовищі перевіряли імуноензимним аналізом. Для конструювання гена одноланцюгового антитіла було отримано послідовність варіабельних ділянок антитіла. Сконструйований ген scFv клонували у плазмідний вектор pET-28a з додаванням послідовності His-тегу. Отриману рекомбінантну плазмиду використовували для трансформації компетентних клітин *E. coli* BL21 (DE3) методом електропорації. Трансформовані клітини відбирали на селективному середовищі. Для експресії рекомбінантного протеїну бактеріальні культури культивували до експоненційної фази росту та індукували ізопропіл- $\beta$ -D-тіогалактозидом (IPTG). Після індукції клітини збирали та проводили аналітичне виділення. Наявність рекомбінантного протеїну визначали методом Western blot з використанням антитіл до His-тегу.

**Результати досліджень і їх обговорення.** Імуноензимним аналізом було підтверджено продукцію гібридомами антитіла I-3C, специфічного до фібрину. Після секвенування моноклонального антитіла I-3C отримано послідовності варіабельних ділянок важкого та легкого ланцюгів, на основі яких сконструйовано ген одноланцюгового антитіла (scFv), успішно клонований у вектор pET-28a. На середовищі з канаміцином отримано колонії трансформованих клітин *E. coli*. Western blot із використанням антитіл до His-тегу підтвердив наявність рекомбінантного scFv I-3C у клітинному лізаті.

**Висновки.** Вперше отримано рекомбінантний одноланцюговий фрагмент антитіла I-3C (scFv). Подальші дослідження, спрямовані на перевірку його специфічності до фібрину та антикоагулянтних властивостей, дозволять розглядати його як потенційний прототип антитромботичного препарату спрямованої дії, який переважатиме аналоги за ефективністю та безпечністю.

## ВМІСТ ГОРМОНІВ T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, ТТГ, ТЕСТОСТЕРОНУ ТА ЕСТРОГЕНУ В ЗАМОРОЖЕНІЙ ТА ЛІОФІЛІЗОВАНІЙ СИРОВАТЦІ КОРДОВОЇ КРОВІ ЛЮДИНИ

*В.С. ГОЙДИНА<sup>1,2</sup>, О.А. НАКОНЕЧНА<sup>1</sup>, В.Ю. ПРОКОПЮК<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>Харківський національний медичний університет, кафедра біологічної хімії

<sup>2</sup>Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України, відділ експериментальної кріомедицини

*E-mail:* [vs.hoidina@knmu.edu.ua](mailto:vs.hoidina@knmu.edu.ua)

**Ключові слова.** Ліофілізація, заморожування, сироватка кордової крові, збереженість, гормональний спектр.

**Вступ.** Сучасні дослідження сироватки кордової крові (СКК) дають змогу оцінити увесь спектр біологічно активних компонентів, що присутні та мають доведений позитивний ефект. Відомо, що сироватка, як безклітинна рідина, може бути заморожена без використання кріопротекторів. Але також доведено, що багаторазовий процес заморожування-розморожування має негативний вплив на збереженість компонентів СКК. Пошук нових протоколів та методів зберігання СКК є актуальним питанням сьогодення в умовах нестабільної роботи електромереж.

**Мета.** Оцінка збереження вмісту гормонів T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, ТТГ, тестостерону та естрогену в замороженій при -20°C та в ліофілізованій СКК з попереднім охолодженням до -20°C, до -80°C.

**Методи.** Для аналізу використовували людську СКК, що була взята з інформованої згоди породіль, ліофілізацію проводили на ліофільній установці Alpha 1-2 LD plus (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Німеччина). Для дослідження заморожену СКК розморожували, ліофілізовану СКК доводили до попереднього об'єму дистилятом. Вміст гормонів визначали за допомогою імуноферментного методу з використанням наборів виробництва «ХЕМА», Україна.

**Результати досліджень і їх обговорення.** При аналізі вмісту гормону T<sub>3</sub> було показано, що найбільшу збереженість має група ліофілізованої СКК при попередньому охолодженні до -20°C, тоді як заморожена СКК мала найнижчий рівень трийодтироніну. Дослідження вмісту гормону T<sub>4</sub> в СКК дало несуттєві відмінності між групами, що свідчить про майже однакову збереженість. Визначення вмісту гормону ТТГ показало найкращу збереженість у замороженій СКК, а ліофілізати не мали статистично значущих відмінностей. Аналогічну тенденцію оцінки збереженості було отримано при аналізі СКК на вміст тестостерону та естрадіолу.

**Висновки.** Загальний аналіз збереженості гормонального спектру в замороженій та в ліофілізованій СКК показав відносно кращі дані у замороженій при -20°C сироватці. У той же час доведеним є факт втрати біологічної активності компонентів при кожному фактичному моменті заморожування-розморожування, що є актуальним при транспортуванні чи зниженні потужності електропостачання. У ліофілізованих речовинах таких проблем не виникає через більш спрощені умови зберігання. Також є актуальним подальше дослідження та порівняння вмісту інших біологічно активних компонентів СКК.

## EFFECT OF CULTURE MEDIA ON LIPOPEPTIDE BIOSURFACTANT BIOSYNTHESIS AND EMULSIFICATION ACTIVITY

*YU. A. SKRIL, S. V. POLOVKOVYCH*

Lviv Polytechnic National University, Lviv

*E-mail: [yuliya.a.skril@lpnu.ua](mailto:yuliya.a.skril@lpnu.ua)*

**Keywords.** Biosurfactants, lipopeptides, fermentation, emulsification activity.

**Introduction.** Biosurfactants are environmentally safe alternative to synthetic surfactants. These compounds can emulsify hydrophobic compounds, thereby increasing their bioavailability for microbial degradation. Lipopeptide biosurfactants such as surfactin, iturin A, fengycin, and lichenysin D shown strong activity and ability to reduce surface tension and enhance oil recovery. In comparison with synthetic surfactants, they are biodegradable, nontoxic, and effective under various conditions such as wide pH and temperature range, large-scale production is problematic, because of high production costs and low product yields. The present study focuses on selection of a novel lipopeptide-producing bacterium and the optimisation fermentation process using comprehensive strategies.

**Aim.** The present study was designed in order to determine effects of different culture media on fermentation conditions and biosurfactant biosynthesis.

**Methods.** Fermentation was performed in flasks containing 1.5 L of medium on a shaker at 960 rpm and  $30 \pm$

1 °C. The growth parameters of culture and biosurfactant production were controlled during seven days period, samples were collected every 12 hours during the exponential growth phase and every 24 hours during the stationary phase. In the collected samples, the rate of biomass accumulation was determined at 600 nm wavelength optical density. The emulsification index E24 was used as indicator for biosurfactant levels.

**Results and Discussion.** Optical density analysis at 600 nm demonstrated that the highest biomass accumulation was achieved in minimal salt medium, reaching over 1.6 units after 144 hours cultivation. The yeast extract medium had lower biomass accumulation. The emulsification index E24 showed positive trends in both types of media, but surfactant biosynthesis was more stable in minimal salt medium, suggesting it to be more prospective for biosurfactant activity research. In the yeast extract medium, E24 was variable, likely due to natural biosurfactants present in yeast extract. Maximum emulsification index was observed after 120 hours, corresponding to intensive biosynthesis.

**Conclusions.** Minimal salt medium is more favourable than yeast extract for fermentation to produce biosurfactants. It ensures process stability and predictability and allows for emulsifying activity assessment.

## РОЗРОБКА ТА ВАЛІДАЦІЯ КОНДУКТOMETРИЧНОГО БІОСЕНСОРА НА ОСНОВІ ІММОБІЛІЗОВАНОЇ КРЕАТИНІНДЕІМІНАЗИ ДЛЯ СЕЛЕКТИВНОГО ВИЗНАЧЕННЯ КРЕАТИНІНУ

*В.А. БАХМАТ, О.О. СОЛДАТКІН, В.М. АРХИПОВА, С.В. ДЗЯДЕВИЧ*

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України

*E-mail:* [veronikab2406@gmail.com](mailto:veronikab2406@gmail.com)

**Ключові слова.** Кондуктометричний біосенсор, креатинін, креатиніндеіміназа, іммобілізація ензимів, клінічна діагностика.

**Вступ.** Креатинін є ключовим біомаркером функціонального стану нирок, оскільки його концентрація у біологічних рідинах відображає ефективність клубочкової фільтрації. Традиційні методи визначення (метод Яффе, хроматографічні та електрофоретичні підходи) забезпечують високу точність, однак потребують складного обладнання та кваліфікованого персоналу та тривалої пробопідготовки. У зв'язку з цим перспективним є розробка біосенсорів, зокрема кондуктометричних, які характеризуються простотою реалізації, низькою вартістю та можливістю мініатюризації з метою портативного польового використання.

**Мета.** Розробка та валідація кондуктометричного ферментного біосенсора на основі іммобілізованої креатиніндеімінази для селективного визначення креатиніну.

**Методи.** Для створення біосенсорів в роботі використовували кондуктометричні перетворювачі з золотими міжпальцевими електродами. Креатиніндеіміназу (КД) (ЕС 3.5.4.21) іммобілізували у матриці бичачого сироваткового альбуміну шляхом ковалентного зшивання глутаровим альдегідом та фотополімеризації з фотополімером PVA-SbQ. Вимірювання проводили у диференційному режимі у фосфатному буфері. Досліджено вплив параметрів середовища, селективність та аналітичні характеристики біосенсора. Апробацію здійснювали на зразках штучної сечі методом стандартних додавань і порівнянням з традиційним методом Яффе.

**Результати досліджень і їх обговорення.** В ході роботи досліджено різні методики іммобілізації КД (включаючи ковалентне зшивання і фотополімеризацію) та показано, що іммобілізація КД у краплі глутарового альдегіду забезпечує найкращу чутливість та відтворюваність (RSD < 2%) і швидкий біосенсорний відгук (~25 с на 1 мМ креатиніну). Біосенсор характеризується низькою межею (5 мкМ) та широким лінійним діапазоном (5 мкМ – 1 мМ) визначення креатиніну. Оптимальні умови роботи досягаються при рН 7,3 та низькій іонній силі середовища. Біосенсор демонструє високу селективність до креатиніну, а саме: вплив основних компонентів сечі не перевищує 10% від сигналу на креатинін. При аналізі штучної сечі отримано високу відтворюваність (RSD = 5%). Порівняння з методом Яффе, що стандартно використовується в клінічному аналізі креатиніну, показало високу кореляцію результатів (R = 0,98), що підтверджує точність визначення креатиніну в сечі розробленим біосенсором. Окрім цього кондуктометричний біосенсор на основі іммобілізованої КД зберігає працездатність протягом щонайменше одного місяця зберігання.

**Висновки.** В роботі розроблено та валідовано кондуктометричний біосенсор на основі КД для селективного визначення креатиніну. Біосенсор характеризується високою чутливістю, широким лінійним діапазоном, швидкими відгуками та доброю відтворюваністю. Результати апробації розробленого біосенсора свідчать про потенційну перспективність його використання для аналізу біологічних зразків з метою моніторингу функції нирок.

**Джерело фінансування.** Роботу було виконано за підтримки Національного фонду досліджень України в рамках проєкту 2025.07/0161.

**N-STEAROYLETHANOLAMINE (NSE) MODULATES SURVIVAL, PROLIFERATION, AND MIGRATION OF LEWIS LUNG CARCINOMA CELLS (LLC) AND REGULATES PROINFLAMMATORY CYTOKINE LEVELS IN VITRO UNDER STRESS CONDITIONS**

*S.V. YAROSHENKO, T.D. SKATERNA, T.M. HORIDKO, O.S. TKACHENKO*

Palladin Institute of Biochemistry of NAS of Ukraine, Kyiv

*E-mail: [yaroshenko18sofia@knu.ua](mailto:yaroshenko18sofia@knu.ua)*

**Keywords.** Cannabimimetics, NSE, lipopolysaccharide, LLC, stress.

**Introduction.** The cell response to stress involves modulation of cellular functions and changes in the microenvironment, accompanied by the development of inflammatory reactions. Under these conditions, cells acquire characteristics typical of malignant neoplasms, such as enhanced proliferation, increased survival, and metastatic potential, ultimately driving tumor progression. A promising avenue for addressing this challenge lies in biologically active lipids, cannabimimetics, which exhibit notable anti-inflammatory and cytoprotective properties.

**Aim.** To examine the biological responses of LLC cells subjected to LPS-induced stress in vitro.

**Methods.** Stress was induced using 5 µg/ml lipopolysaccharide (LPS). Metabolic activity was assessed by the MTT assay after 24 h, following 24 h of LPS preincubation. Proliferative activity was evaluated by direct cell counting. Cell migration was measured using the scratch assay. Proinflammatory cytokines in the conditioned medium were assessed by ELISA.

**Results and Discussion.** NSE at concentrations of  $10^{-6}$  and  $10^{-7}$  M significantly suppressed the metabolic activity, proliferation, and migration of LLC cells compared to the control, both under normal conditions and under LPS-induced stress. NSE also modulated proinflammatory cytokine production, reducing IL-6 levels and influencing TNF- $\alpha$  expression depending on incubation conditions: a) NSE reduced IL-6 in the conditioned medium both in LPS-treated cells and following NSE preincubation; b) NSE pretreatment increased TNF- $\alpha$  levels under LPS stress, whereas preincubation with  $10^{-6}$  M NSE prevented the LPS-induced rise in TNF- $\alpha$ ; c) In samples without stress induction, NSE reduced IL-6 content in the conditioned medium by approximately 50%.

**Conclusions.** The findings demonstrate that NSE exhibits antitumor and protective activity under LPS-induced stress in vitro. Specifically, NSE inhibits cellular metabolism, suppresses proliferation, and slows migration. In addition, NSE modulates the production of proinflammatory cytokines, reducing IL-6 levels and influencing TNF- $\alpha$  expression depending on incubation conditions. Collectively, these effects highlight the biological significance of NSE and support its potential as a basis for developing novel antitumor strategies. By targeting cellular regulatory networks, NSE may serve as an effective tool for the prevention and treatment of stress-associated malignant neoplasms.

**Funding source.** The work was carried out of the theme «Creation and implementation of new methods and biomedical tools for targeted therapy of pathological conditions caused by stress factors and/or combat trauma» (registration № 0125U000792), 2025-2026.

**Acknowledgement.** Authors gratefully acknowledge head departments Prof. DSci L.B. Drobot, DrSc A.O. Thychomyrov, PhDH.V. Kosyakova.

## EFFECT OF N-STEAROYLETHANOLAMINE ON THE FATTY ACID COMPOSITION OF BLOOD PLASMA IN RATS WITH IMIQUIMOD-INDUCED PSORIASIS-LIKE INFLAMMATION

*K. IBRAHIMOV, O. TKACHENKO, T. HORIDKO, H. KOSIAKOVA, O. ZHUKOV*

Palladin Institute of Biochemistry of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine.

*E-mail: [kyamilibragimov@gmail.com](mailto:kyamilibragimov@gmail.com)*

**Keywords.** inflammation, psoriasis, endocannabinoids, N-stearoyletanolamine, fatty acids

**Introduction.** Inflammation is currently considered an integral part of the pathogenesis of many diseases and is viewed as a central link in the pathogenesis of psoriasis. Studies of the effects of N-stearoylethanolamine (NSE) in experimental models of different pathological conditions have demonstrated its anti-inflammatory properties, mediated by indirect influence on reducing key pro-inflammatory cytokines (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ), which in turn indicates inhibition of the pro-inflammatory phase of inflammation.

**Aim.** The aim of our study was to determine the effect of NSE on the fatty acid composition of the blood plasma of rats with imiquimod-induced psoriasis-like inflammation.

**Methods.** The model of psoriasis-like inflammation was reproduced in male Wistar rats (n = 30) over 15 days of exposure to 125 mg of imiquimod applied to a pre-prepared area of the rats' skin. The rats were divided into 6 groups (control, IMQ-7, IMQ-11, IMQ-15, NSE-11, NSE-15). Beginning on day 7, the NSE-11 and NSE-15 groups received an application of an aqueous suspension of NSE to the area with psoriasis-like inflammation at a dose of 1 mg/0.3 ml per rat, while the application of imiquimod was continued in parallel. The animals were euthanized by decapitation under CO<sub>2</sub> anesthesia, and blood plasma was collected for further analysis. Fatty acids were determined using a GC7890 Agilent gas chromatograph (Agilent Technologies, USA) equipped with an Agilent 8987 mass detector and an HP-5MS capillary column (30 m  $\times$  250  $\mu$ m  $\times$  0.25  $\mu$ m), with helium as the carrier gas. Statistical analysis was performed using Student's t-test (P < 0.05).

**Results.** The development of psoriasis-like inflammation induced by imiquimod exposure was accompanied by changes in the fatty acid composition of rat blood plasma, particularly in the  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acid (FA) ratio. It was noted that on day 7 there was a significant decrease in both the total fatty acid profile and the concentrations of saturated and unsaturated fatty acids, as well as a decrease in the  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 FA ratio, which indicates activation of the pro-inflammatory phase of inflammation caused by imiquimod exposure. Similar fluctuations in fatty acid composition were also observed on days 11 and 15 of exposure. In the group of rats that received NSE, normalization of the main fatty acid components and of the  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 FA ratio in blood plasma was observed on day 15 of imiquimod exposure.

**Conclusions.** The experimental data indicate that the administration of NSE to rats with imiquimod-induced psoriasis-like inflammation helps restore the fatty acid composition and the  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acid ratio in blood plasma, and thus may act as a constellation factor in initiating the resolution phase of inflammation.

**Funding source.** This work was funded by the National Academy of Sciences of Ukraine, projects № 0124U000342.

**Acknowledgment.** The authors thank Prof. N. Hula for the provided advisory assistance.

## СТРУКТУРНІ ОСОБЛИВОСТІ СЕЛЕКТИВНОСТІ HDAC КЛАСУ II: IN SILICO РЕКОНСТРУКЦІЯ HDAC10 ТА ФІЗИКО-ХІМІЧНЕ ПРОФІЛЮВАННЯ ІНГІБІТОРІВ КЛАСУ IIb

*А. ДЗЬОБАК, І. ВОЙТЕШЕНКО, Д. САМОФАЛОВА*

ННІ високих технологій, Київський національний університет імені Тараса Шевченка

*E-mail: [andrii.dzobak@gmail.com](mailto:andrii.dzobak@gmail.com)*

**Ключові слова.** HDAC10, інгібітори, гомологічне моделювання, віртуальний скринінг, молекулярна динаміка.

**Вступ.** Гістонові деацетилази (HDAC) є критичними регуляторами експресії генів та перспективними терапевтичними мішенями при раку і нейродегенеративних захворюваннях. Однак розробка ізоформ-селективних інгібіторів, особливо для ферментів класу IIb (HDAC6, HDAC10), залишається складним завданням через високу структурну схожість всередині родини. Рациональний дизайн інгібіторів HDAC10 значно ускладнений відсутністю експериментально отриманої кристалічної структури ферменту людини.

**Мета.** Реконструювати просторову структуру HDAC10 людини, провести порівняльний аналіз ліганд-білкових взаємодій серед HDAC представників класу II та визначити фізико-хімічні детермінанти селективності інгібіторів класу IIb.

**Методи.** Структурні моделі HDAC10 були згенеровані за допомогою серверів I-TASSER та Robetta. Віртуальний скринінг бібліотеки LC HTS Stock Compounds (>500 000 молекул) проводився з використанням молекулярного докінгу в програмі Vina AutoDock. Розрахунок молекулярних дескрипторів та статистичний аналіз було виконано за допомогою RDKit та scipy.stats. Візуалізацію хімічного простору було здійснено алгоритмом UMAP. Валідацію результатів було проведено методом молекулярної динаміки (150 нс) за допомогою інструментарію OpenMM з подальшим розрахунком термодинамічного профілю MM-GBSA.

**Результати досліджень і їх обговорення.** Згенерована тривимірна модель просторової структури HDAC10 була успішно валідована за геометричними метриками. Завдяки молекулярному докінгу було ідентифіковано 36 сполук з високою передбаченою афінністю до досліджуваних ізоформ HDAC. Фізико-хімічне профілювання виявило статистично достовірні відмінності: селективні ліганди класу IIb характеризуються меншою кількістю донорів водневих зв'язків та нижчою часткою sp<sup>3</sup>-гібридизованих атомів вуглецю (FSP3) порівняно з лігандами класу IIa. Аналіз хімічного простору дозволив візуалізувати хімічні кластери та виділити специфічні скафолди для подальшої оптимізації інгібіторів HDAC10 та HDAC6. Молекулярна динаміка підтвердила високу стабільність отриманих комплексів: ліганди надійно утримувалися в активному центрі (RMSD 1.0–2.0 Å) протягом 150 нс. Профілювання MM-GBSA показало, що хоча HDAC4 та HDAC10 демонструють подібну загальну вільну енергію зв'язування (~ -69 ккал/моль), їхні рушійні сили фундаментально відрізняються. Мішені класу IIa переважно покладаються на ширшу гідрофобну поверхню для закріплення ліганду, тоді як клас IIb компенсує вужчу кишеню утворенням значно сильніших електростатичних взаємодій.

**Висновки.** Створено та валідовано тривимірну модель просторової структури HDAC10 людини. Визначено ключові фізико-хімічні (нижчі показники FSP3 та донорів водневих зв'язків) і термодинамічні (перевага електростатичних взаємодій) детермінанти селективності інгібіторів класу IIb. Ці дані створюють комплексну основу для рационального дизайну ізоформ-селективних інгібіторів HDAC наступного покоління.

**Джерело фінансування.** Роботу виконано на базі науково-виробничого підприємства «Сполука».

## COMPARISON OF MOLECULAR GENETIC METHODS FOR HLA TYPING TO IDENTIFY RARE ALLELIC VARIANTS

*D.O. DROBNOVA, I.I. TUBALTSEVA, L.O. SISHCHUK, A.O. MAZANOVA, Y.A. HROHUL*

SNCE «National Specialized Children's Hospital «Okhmatdyt» of the Ministry of Health of Ukraine»

*E-mail: [dasha.drobnova@gmail.com](mailto:dasha.drobnova@gmail.com)*

**Keywords.** Human leukocyte antigen, genotyping, rare alleles.

**Introduction.** Human Leukocyte Antigen (HLA) is a key system of immune recognition responsible for distinguishing “self” from “non-self”. High HLA polymorphism is critical in hematopoietic stem cell and organ transplantation, as even minimal mismatches between donor and recipient may lead to severe complications, including graft-versus-host disease and graft rejection. Rare HLA alleles are a challenge for routine diagnostics, as they may not be detected by standard methods, making high-resolution HLA typing essential for accurate identification and improved transplantation outcomes.

The **aim** of this study was to compare molecular typing methods with different resolution levels for detection of rare HLA alleles.

**Methods.** Peripheral blood DNA was extracted using the Macherey-Nagel kit. DNA quality was assessed by NanoDrop and Qubit. HLA typing was performed using sequence-specific oligonucleotides (SSO, LABType, Luminex platform), Sanger sequencing-based typing (SBT, SeCore kit, capillary electrophoresis), and next-generation sequencing (NGS, AllType FASTplex, Ion S5 system). Data analysis was performed using HLA Fusion (v4.6.1 and 6.0) and TSV 3.1 software.

**Results and Discussion.** Peripheral blood samples from patients undergoing preparation for hematopoietic stem cell transplantation were analyzed in the Tissue Typing Department of SNCE «NCSH «OKHMATDYT» MHU». HLA-A and HLA-C loci were studied using SSO, SBT, and NGS.

All methods showed concordant results at the allele group level; however, significant differences were observed in high-resolution typing. Only NGS identified rare alleles A\*11:21N, C\*03:321, and C\*07:248, while SSO and SBT assigned them to common variants (A\*11:01, C\*03:03, C\*07:01).

Limitations of SSO and SBT were related to low resolution and incomplete mutation coverage. A\*11:21N, caused by a cytosine insertion in exon 4, was missed by SBT, which primarily analyzes exons 2–3. C\*03:321 showed ambiguous signals due to database limitations, while C\*07:248 was not detected by SSO due to lack of specific probes.

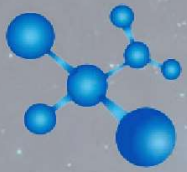
NGS demonstrated high sequencing depth and reliable detection of rare variants. For C\*07:248, allele-specific nucleotide frequencies confirmed true variation. For A\*11:21N and C\*03:321, no exact IMGT/HLA matches were found, suggesting extremely rare or novel alleles.

SSO showed limited specificity due to probe restrictions, while SBT provided higher resolution but was constrained by partial gene coverage and interpretation limitations. NGS demonstrated the highest diagnostic accuracy due to full gene coverage and high read depth.

**Conclusions.** SBT provides higher resolution than SSO; however, both methods have significant limitations in detecting rare HLA variants. Only NGS enables reliable identification of such alleles due to its high resolution and sequencing depth, justifying its clinical use to optimize donor selection and reduce post-transplant complications.

**Funding source.** SNCE “National Specialized Children's Hospital ‘OKHMATDYT’” of the Ministry of Health of Ukraine.

**Acknowledgement.** The authors thank Dr. Natalia Olkhovych for support.



**BIONIX**  
LAB


## Обладнання та витратні матеріали

- Секвенування нового покоління (NGS)
- Тест-системи та набори реагентів
- Технологія цифрової ПЛР ddPCR
- Ампліфікатори та термоциклери
- Бокси біологічної безпеки
- Електрофорез та блотинг
- Цитометри та сортери
- Рідери та вошери
- Хроматографія

**BIO-RAD**

 starlab

 **TECAN**

 **NANOPORE**  
technologies

**adrona**

 **NEW ENGLAND**  
*Biolabs*

**Microsynth**  
THE SWISS DNA COMPANY

**SERVA**  
Electrophoresis

 **Telstar**

Bridging the World

**GeneAll**

# Секвенування з Oxford Nanopore відтепер доступне в Україні



## Готуй

Просте та швидке  
приготування  
бібліотек



## Секвенуй

Будь-яка довжина,  
будь-який масштаб, в  
реальному часі



## Аналізуй

рішення для  
біоінформатичного  
аналізу для будь-якого  
рівня експертизи





Colmatek



BIONIX  
LAB

ЮРІЯ·ФАРМ



ISBN 978-617-95423-6-7



9 786179 542367 >