

8. Kim Y.-Y., Kim D.-Y., Shim D. et al. Expression of the novel wheat gene TM20 confers enhanced cadmium tolerance to bakers' yeast // J. of Biological Chemistry. – 2008. – 283 (23). – P. 15893–15902.

GORBATYUK I.R., BAVOL A.V., MORGUN B.V.

Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine, 03680, Kyiv, Akad. Zabolotnoho str., 148, e-mail: molgen@icbge.org.ua

AGROBACTERIUM-MEDIATED *IN PLANTA* TRANSFORMATION OF WINTER WHEAT CV. PODOLYANKA AND SPRING WHEAT CV. BOBWHITE

Aims. *Triticum aestivum* L., being one of the world's most important staple crops, remains a challenge for genetic transformation. This paper describes the application of *in planta* method to obtain transformants by treating cells of intact plants with argobacterium. **Methods.** Analysis of the plant material for the presence of *nptII* transgene was carried out using polymerase chain reaction (PCR). **Results.** Fresh agrobacterium containing vector p014 was transferred into spikes of wheat. There were 13 seeds (18.0 %) collected of cv. Bobwhite out of 72 possible from 12 spikes and 293 seeds (46.4 %) of cv. Podolyanka out of 620 possible from 24 spikes. Based on the results of PCR for the presence of *nptII* transgene there were no positive signals found for the cv. Bobwhite. On the other hand there were 4 clear positive samples detected for cv. Podolyanka indicating the presence of *nptII* sequence. **Conclusions.** *Agrobacterium*-mediated *in planta* transformation was conducted for winter cv. Podolanka and spring cv. Bobwhite. The ambient temperature below 28 °C during the next 18 hours after agrobacterium application was crucial. Tested probes of cv. Podolyanka (13.3 %) were positive for the presence of transgene *nptII*.

Key words: wheat, transformation, *nptII*, agrobacterium, GFP.

УДК 167.33:616.36-004+599.323.41

ГУЛЬКО Т.П.^{1,5}, ДРАГУЛЯН М.В.¹, ДЕРЯБИНА Е.Г.^{1,5}, КОРДИУМ В.А.¹, ЛЕВКИВ М.Ю.², БУБНОВ Р.В.^{3,4}

¹ *Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины,*

Украина, 03143, г. Киев, ул. Акад. Заболотного, 150, e-mail: kordium@imbg.org.ua

² *Киевский национальный университет им. Тараса Шевченка,*

Украина, 01601, г. Киев, ул. Владимирская, 64/13

³ *Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,*

Украина, 03143, г. Киев, ул. Акад. Заболотного, 154

⁴ *Центр ультразвуковой диагностики и интервенционной сонографии Клинической больницы «Феофания» Государственного Управления делами,*

Украина, 03680, г. Киев, ул. Акад. Заболотного, 21

⁵ *ГУ «Институт генетической и регенеративной медицины НАМНУ»,*

Украина, 04114, г. Киев, ул. Вышгородская, 67

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЦЕССОВ ПОВРЕЖДЕНИЯ, КОМПЕНСАЦИИ И ПРИСПОСОБЛЕНИЯ В ПАТОЛОГИЧЕСКИ ИЗМЕНЕННОЙ ПЕЧЕНИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ CCl₄

Многие заболевания печени характеризуются наличием воспалительного процесса, при котором происходит интенсивное отмирание гепатоцитов, в результате чего орган теряет свои функции. Однако следует заметить, что многие авторы при комплексном лечении заболеваний печени рассматривают компенсаторно-приспособительные (адаптивные) реакции. К таким реакциям исследователи относят регенерацию, гипертрофию и перестройку тканей [1, 2]. В связи с этим,

актуальным представляется исследование повреждения печени на экспериментальной модели, индуцированной четыреххлористым углеродом (CCl₄), а также изучение регенеративной способности в измененной печени на протяжении 2 месяцев после окончания затравки токсином.

Материалы и методы

Исследования проведены на 20 мышак-самцах линии ICR, которые в начале эксперимента были разделены на 3 группы.

Животным первой группы на протяжении всего эксперимента раз в неделю интраперитонеально вводили 30 % масляный раствор CCl_4 (1 мкл на 1 г живого веса). Животным второй группы на протяжении 7 недель раз в неделю интраперитонеально вводили 30% масляный раствор CCl_4 (1 мкл на 1 г живого веса), а потом за 2 месяца до окончания эксперимента прекращали затравку четыреххлористым углеродом. Животные 3-й группы были здоровыми. В начале эксперимента масса тела мышей, которых содержали на стандартном пищевом рационе, составляла 25 г.

Животных после проведения ультразвукового исследования (УЗИ) внутренних органов и предварительного ночного голодания выводили из эксперимента на 7, 10, 12 и 14 неделе от начала опыта. Полученный от животных биоматериал использовали для проведения патологоанатомических, биохимических и гистологических исследований.

Результаты и обсуждение

При вскрытии мышей из 1-ой и 2-ой группы на 10 неделе опыта у мышей 2-ой группы (на момент забоя 4 недели, как прекратили вводить CCl_4) печень визуально не отличалась – была твердая, кровенаполненная, крупнозернистая с затупленными краями. Желчный пузырь плотный, мутный, внутри визуализировалось инородное включение. Визуально о регенерации органа у мышей 2-ой группы можно с большей степенью судить по 12 неделе эксперимента (на момент забоя 6 недель, как прекратили вводить CCl_4). Печень у мышей этой группы неоднородная, светло-коричневая, паренхима органа местами твердая, местами мягкая. По мере того, как печень у мышей, которым 8 недель, перестали вводить CCl_4 , постепенно визуально восстанавливалась и приближалась к интактной, у мышей, которым постоянно вводили токсин наблюдалась противоположная картина. Визуально орган у животных 1 группы светло-коричневый, крупнозернистый, с белыми новообразованиями (в основном на большой доле), плотный по консистенции. У этих мышей значительно увеличивались брыжеечные лимфоузлы.

О наличии компенсаторно-приспособительных реакций в измененной печени мышей 2-ой группы также свидетельствовал вес печени, тимуса и селезенки, который, по сравнению с мышами 1-ой группы (через 4

недели прекращения затравки) сначала увеличивался, а потом уменьшался и становился меньше, чем у мышей 1 группы. Следует отметить, что с уменьшением размера печени уменьшались показатели АлАТ и АсАТ во 2-ой группе мышей, которым прекратили вводить токсин, по сравнению с 1-ой группой мышей, у которых показатели АлАТ выше (табл.).

На рисунке 1 представлена гистология печени здоровых мышей и мышей, которым прекратили вводить четыреххлористый углерод (в момент прекращения затравки). Фото мышей, которым вводили токсин свидетельствует о частичном нарушении структуры печеночных долей, некрозе гепатоцитов и 80 % некротизации паренхимы органа

На рисунке 2 представлена гистология 2-х групп мышей – мышки, которой прекратили вводить четыреххлористый углерод (через 4 недели) и мышки, которой продолжали вводить CCl_4 . Гистологические исследования изменения в структуре паренхимы печени у мышей обеих групп выявили наличие участков некроза паренхимы органа, частичный некроз гепатоцитов, наличие лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрации в паренхиму органа (рис. 2, а, б). У мышей 1-ой группы, которым вводили CCl_4 на протяжении всего эксперимента выявлено нарушение дольковой структуры с пронизывающими соединительнотканными прослойками (рис. 2, в). Позитивный сдвиг гистологических параметров печени наблюдался в печени мышей 2-ой группы (на момент забоя 4 недели, как прекратили вводить CCl_4), по сравнению с печенью мышей 1-ой группы (рис. 2, г).

На рисунке 3 представлена гистология 2 групп мышей. Забой на конечной точке эксперимента. Гистологические изменения в печени мышей, которым на протяжении всего эксперимента вводили токсин, свидетельствует о полном отсутствии структуры долей органа. Имеет место выраженный некроз гепатоцитов, что привело к 100 % некротизации паренхимы органа. Еще более выраженный позитивный сдвиг гистологических параметров наблюдается в печени мышей 2-ой группы на последней исследуемой точке эксперимента. У них, по данным гистологического исследования, сохранена структура печеночных долей, присутствует вздутие, некроз гепатоцитов, кровенаполнение сосудов органа.

Таблица. Некоторые биометрические показатели физиологического состояния организма мышей в ходе эксперимента

№	Группа животного	Неделя эксперимента	Количество недель после окончания затравки CCl_4	Вес животного	Вес печени на 100 г	Вес тимуса на 100 г	Вес селезенки на 100 г	АлАТ (Ед/л)	АсАТ (Ед/л)
1	1 группа	10	-	29,3	6,1	68,0	778,2	90,6	87,3
2	1 группа	12	-	31,5	6,0	69,8	436,5	84,1	80,9
3	1 группа	12	-	33,3	5,7	58,6	672,8	88,2	83,5
4	1 группа	14	-	33,1	6,9	72,5	507,6	87,6	83,9
5	2 группа	10	4	35,5	7,0	59,0	839,4	80,9	77,6
6	2 группа	10	4	32,7	9,0	58,0	951,0	135,9	139,1
7	2 группа	12	6	33,4	5,4	52,4	371,3	43,2	87,4
8	2 группа	12	6	31,3	5,1	63,5	426,5	67,3	60,8
9	2 группа	14	8	30,2	5,9	64,2	365,4	55,3	74,1
10	интакт			34,1	5,4	79,2	785,9	24,7	24,7
11	интакт			31,5	5,2	120,0	787,3	16,1	8,1
12	интакт			32,5	5,4	64,6	707,6	6,5	16,1

Примечание: 1 группа – мыши, которым вводили CCl_4 на протяжении 4 месяцев эксперимента; 2 группа – мыши, которым на протяжении 7 недель вводили CCl_4 , а потом за 2 месяца до окончания эксперимента прекращали затравку четыреххлористым углеродом.

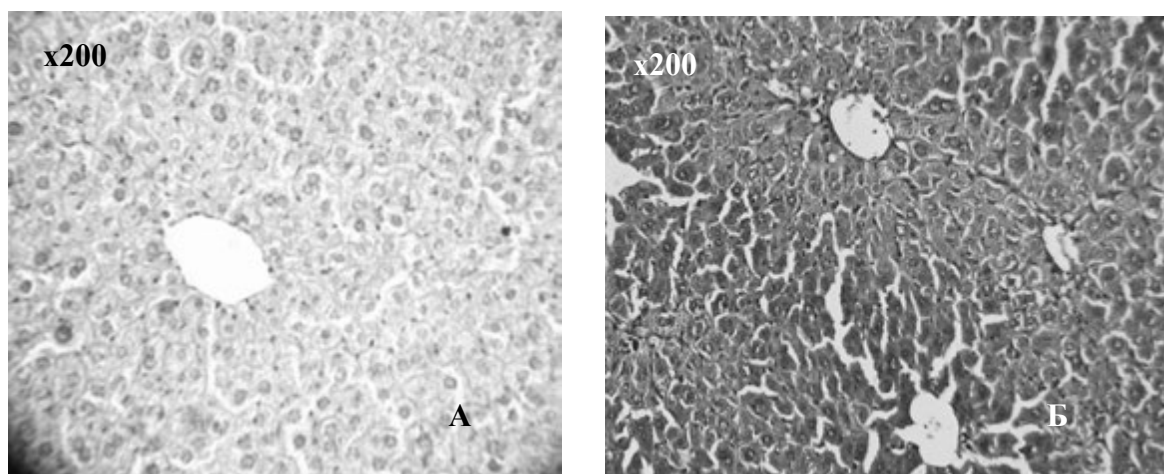


Рис. 1. Гистология печени: А) печень здоровой мышкки; Б) изменения в структуре печени мышей после 7 недель внутрибрюшинного введения CCl_4

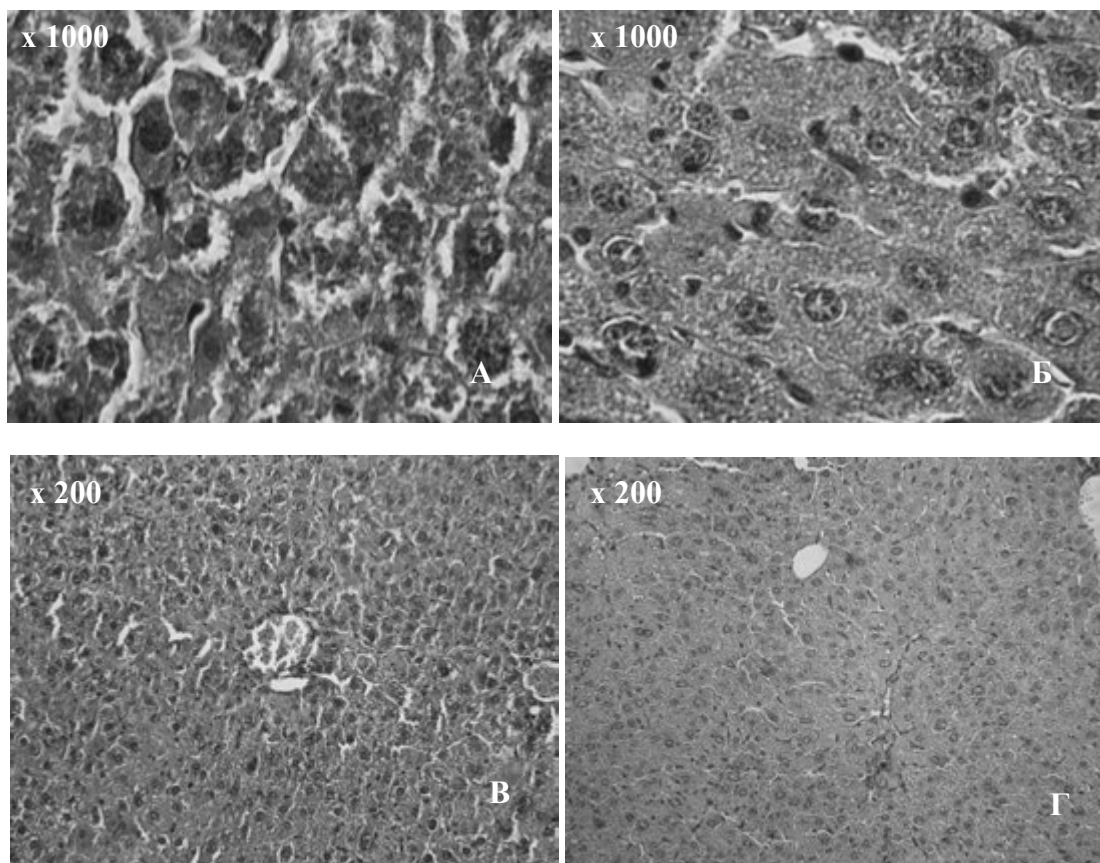


Рис. 2. Гистологические изменения в структуре печени мышей после внутривентриального введения CCl_4 : А, В) печень мышки, которой вводили CCl_4 на протяжении 12 недель эксперимента; Б, Г) печень мышки, которой прекратили вводить CCl_4 через 7 недель от начала эксперимента (на момент забоя 4 недели, как прекратили вводить CCl_4)

При проведении УЗИ печени у мышей 1-й группы, которым постоянно вводили CCl_4 , размер печени составлял 1,3 см, диаметр воротной вены 0,15 см. У мышей 2-й группы, которым прекратили вводить CCl_4 через 7 недель от начала эксперимента размер печени – 1,4 см., диаметр воротной вены 0,11 см. Биометрические показатели размера печени и диаметра воротной вены у здоровых мышей были 1,3 и 0,09 см соответственно (рис. 3).

При интраперитонеальном введении подопытным мышам 1 раз в неделю на протяжении 4-х месяцев 30 % раствора четыреххлористого углерода в подсолнечном масле из расчета 1 мкл на 1 г массы тела нами был получен фиброз печени, обусловленный цитотоксическим мембранотропным действием токсина. Характерными признаками этого фиброза печени были: нарушение дольковой структуры с пронизывающими соединительно-тканевыми прослойками, наличие участков некроза паренхимы органа, значительная

портальная гипертензия и расширение диаметра воротной вены.

В ходе естественного патоморфоза фиброза печени через два месяца после окончания затравки были выявлены признаки, характерные для глубокого фиброза печени, однако процент поврежденной ткани визуально уменьшился. Об этом свидетельствовали также УЗИ печени. Достоверно уменьшились показатели АлАТ в 1,95 раз и АсАТ в 1,46 раз. Уменьшился вес печени в 1,35 раза и селезенки в 2,44 раза. Вес тимуса наоборот увеличился в 0,95 раз.

Выводы

Таким образом, наличие регенеративных процессов в печени, в результате которых она сама поддерживает баланс, указывает на необходимость контроля и управления за происходящими в ней процессами, что позволит улучшить результаты лечения самого заболевания и его осложнений.

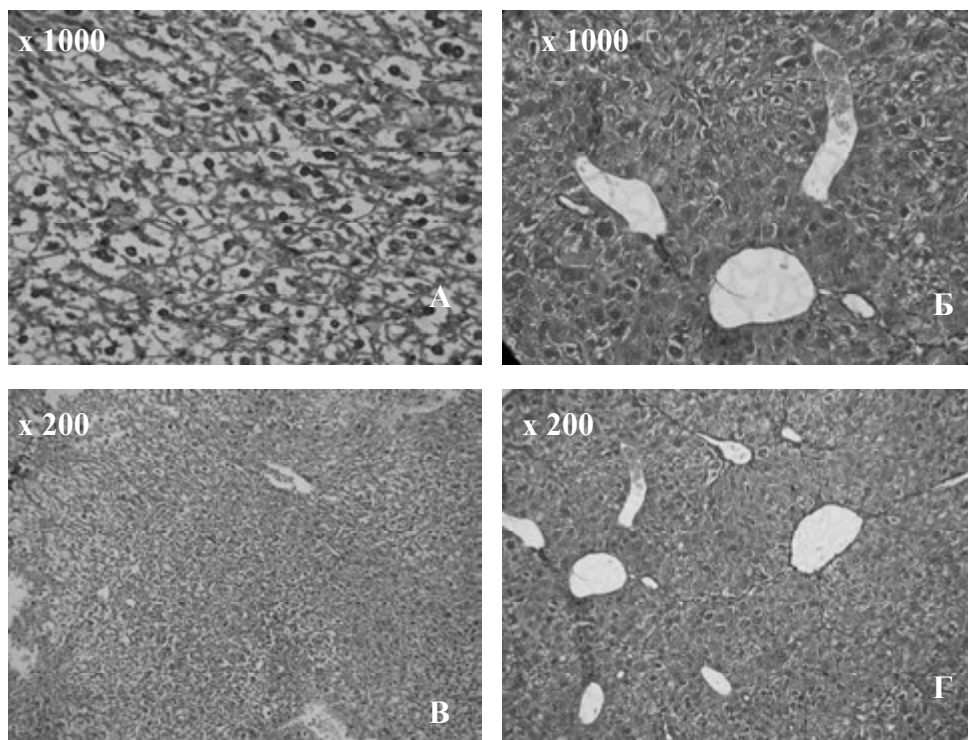


Рис. 3. Гистологические изменения в структуре печени мышей после внутрибрюшинного введения CCl_4 : А, В) печень мышки, которой вводили CCl_4 на протяжении всего эксперимента; Б, Г) печень мышки, которой прекратили вводить CCl_4 через 7 недель от начала эксперимента (забой на конечной точке эксперимента)

Литература

1. Абрамовская Н.В. Сравнительная морфологическая характеристика цирроза печени, индуцированного четыреххлористым углеродом, и его патоморфоза после воздействия на печень высокоинтенсивного диодного лазера (экспериментальное исследование): дис.канд.мед. наук: спец. 14.00.15 – патологическая анатомия / Наталья Владимировна Абрамовская. – Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Челябинская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации» Южноуральского научного центра Российской академии медицинских наук. – Челябинск, 2008. – 182 с.
2. Саркисов Д.С. Регенерация и гипертрофия // Арх. патологии. – 1968. – № 7. – С. 3–12.

GULKO T.P.^{1,5}, **DRAGULYAN M.V.**¹, **DERYABINA E.G.**^{1,5}, **KORDYUM V.A.**¹, **LEVKIV M.U.**², **BUBNOV R.V.**^{3,4}

¹ *Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine, Ukraine, 03143, Kyiv, Akad.Zabolotnogo str., 150, e-mail: kordium@imbg.org.ua*

² *Kievsky National University Taras Shevchenko, Ukraine, 03143, Kyiv, Prospekt Hlushkov str., 2*

³ *Institute of Microbiology and Virology. DK Zabolotny NAS of Ukraine, Ukraine, 03143, Kyiv, Akad. Zabolotnogo str., 154*

⁴ *Tsentr ultrasound and sonography intervetsionnoy Clinical Hospital "Theophany" of the State Administration, Ukraine, 036803, Kyiv, Akad. Zabolotnogo str., 21*

⁵ *State Institute of Genetic and Regenerative Medicine National Academy of Medical Sciences of Ukraine, 04114, Kyiv, Vishgorodska str., 67*

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PROCESSES INJURY COMPENSATION AND DEVICES IN PATHOLOGICAL CHANGES LIVER CCl_4

Aim. Study of liver damage in an experimental model induced carbohydrate tetrachloride (CCl_4), and the study of the regenerative capacity of the diseased liver for 2 months after seeding toxin. **Methods.** Obtaining

models of liver cirrhosis in rats of Wistar 3 and 8 months of age, and was carried out by intraperitoneal injection of 30 % animal oil solution of CCl_4 (0.001 ml/kg) 1 day a week. The dynamics of the disease studied biochemical (measurement of ALT, AST), histological and radiological (SPL) methods. **Results.** By intraperitoneal injection of experimental mouse 1 times a week for 4 months, 30 % carbon tetrachloride solution in sunflower oil at the rate of 1 l per 1 g was formed liver fibrosis caused by cytotoxic membrane-action poison. Characteristic of liver fibrosis were: violation of lobular structures alternate with layers of connective tissue, the presence of areas of necrosis parenchymal organ, a significant expansion of portal hypertension and portal vein diameter. During natural pathomorphism liver fibrosis in two months after seeding showed signs characteristic of deep liver fibrosis, but the percentage of damaged tissue visually reduced. This is also evidenced liver ultrasound. Significantly decreased performance ALT and AST 1.95 times to 1.46 times. Decreased liver weight 1.35 times and 2.44 times in the spleen. Thymus weight conversely increased 0.95 times. **Conclusions.** Thus, the presence of regenerative processes in the liver, as a result of which she maintains the balance indicates the need for monitoring and control of processes occurring in it, which will improve the results of treatment of the disease and its complications. *Key words:* hepatic necrosis, fibrosis, regeneration, mouse.

УДК 577.3

ГУР'ЯНОВ Д.С., ЛИСЕЦЬКА Т.Ю., АНТОНЕНКО С.В., КРАВЧУК І.В., ТЕЛЕГЄЄВ Г.Д.

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України,

Україна, 03680, м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 150, e-mail: dmitriy.gurianov@gmail.com

РОЛЬ ДОМЕНУ PH БІЛКА BCR У КЛІТИННИХ ПРОЦЕСАХ, ЩО ВИЗНАЧАЮТЬ ФЕНОТИП Ph⁺-ПОЗИТИВНИХ МІЄЛОПРОЛІФЕРАТИВНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

Хромосомні порушення є однією з причин розвитку злоякісних захворювань, в тому числі і мієлопроліферативних. Хромосомна транслокація довгими плечима 9 та 22 хромосом призводить до злиття генів *Bcr* та *Abl*. При цьому, за рахунок різних місць розриву у гені *bcr*, утворюються різні варіанти химерного гена *bcr/abl*, що відрізняються наявністю або відсутністю певних функціональних доменів, зокрема доменів PH та DH. Це призводить до генерації химерних білків різної молекулярної маси – *BCR/ABL*^{p190}, *BCR/ABL*^{p210}, *BCR/ABL*^{p230}. Вони призводять до розвитку відповідно гострої лімфобластної лейкемії, хронічної мієлоїдної лейкемії, та хронічної нейтрофільної лейкемії. Таким чином спостерігається закономірність, що при короткій формі білка хвороба протікає у гострій формі, при довгих – у хронічній [1]. В зв'язку з цим, важливо визначити в яких молекулярних процесах задіяні функціональні домени, що характерні для *BCR/ABL*^{p210}, але не *BCR/ABL*^{p190}. Це дозволить виявити, що саме дозволяє перебувати онкобілку в активній формі, але при цьому призводити до менш агресивного фенотипу.

У попередніх дослідженнях було визначено 23 білки, що є кандидатами на взаємодію з доменом PH білка *BCR* [2]. Серед них білки, що належать до різних

функціональних груп. Зокрема можна виділити групу білків елементів цитоскелету, реорганізаторів цитоскелету та цитоплазматичної мембрани, та білків, що задіяні в процесах протеолітичної деградації. Так, кортактин (СТТН) та *FBP17* здійснюють перебудови актинового примембранного цитоскелету, що має важливе значення для багатьох сигнальних процесів, зокрема, для рецепторно-опосередкованого ендоцитозу [3]. *FBP17* сприяє *CDC42*-індукованій полімеризації актину, активації *N-WASP-WIP* комплексу і, отже, приймає участь у сигналінгу від поверхні клітини до актинового цитоскелету [4]. Кортактин розгалуджує актинові філаменти після його активації фосфорилуванням у пролін-багатій ділянці та зв'язуванні з *Arg2/3* комплексом [5]. Відомо, що і *СТТН*, і *FBP17* взаємодіють з динаміном через *SH2* домен та забезпечують розгалуження актинових філаментів на пізніх стадіях формування клатринової везикули [3]. Домен PH взаємодіє з фосфоінозитол-4,5-фосфатами, що є одними з основних складових цитоплазматичної мембрани та комплексу Гольджі [6]. Таким чином може забезпечуватись розділення мембранних каналців для формування ендоцитозних пухирців.

Запобігання протеолітичній деградації є