

нове миелоидных или других предшественников), имеет широкое применение, прежде всего в онкологии. Активируя клетки памяти, распознавая и представляя Т-/В-лимфоцитам антигены (АГ), включая опухолеспецифические (ОСА), с помощью высокоэффективных молекул главного комплекса гистосовместимости, а также интерферонов, интерлейкинов, костимулирующих молекул, ДК (предпочтительно зрелые), как наиболее активные из АГ-презентирующих клеток (АПК), индуцируют первичный/вторичный иммунные ответы, поддерживают жизнь, дифференцировку Т-лимфоцитов и баланс между цитотоксическим (через Th1; популяция ДК1) и гуморальным (Th2; ДК2) иммунными ответами (кроме случаев супрессии, толерогенности, аутоиммунитета, анергии; апоптоза, включая ДК). ДК размножают (*in vitro*, из пре-ДК CD34⁺/CD14⁺; *in vivo*) и активируют лизатами предварительно обработанных (облучением, повторным размораживанием) опухолевых клеток, ОСА-пептидами, ДНК/РНК-специфическими АГ, в том числе внутри нуклеиновых векторов/вирусов.

Цель исследования. Предложен способ формирования, внегеномного синтеза олигонуклеотидных последовательностей специальным механизмом варибельной поэпитопной обратной трансляции: белковый эпитоп в (5–10)_n аминокислот выполняет роль (псевдо) матрицы при синтезе мини/микросателлитподобных последовательностей, так называемых олигонуклеотидных эквивалентов эпитопа (олигоНЭ).

Материалы и методы. Создание огромного реально-го/потенциального многообразия Т-/В-рецепторов и антител (АТ) за счет реаранжировки исходного набора тяжелых/легких цепей и их V (D) JC-сегментов в иммуноглобулинах изучено основательно. Однако не менее значительную роль в создании специфичности названных молекул играют АГ-специфические участки, в состав которых добавляются отдельные, стыкующиеся между вышеназванными сегментами нуклеотиды Р-(концевые палиндромные; возникают на концах сегментов при вырезании одноцепочечных петель ДНК и достройке «хвостов» ферментами репарации ДНК) и N-(не кодируемые сегментами; достраиваются TdT-ферментом в IgH) типов. Природа их появления понятна не полностью.

Результаты. Анализ данных созревания лимфоцитов показал, что полноценность этого процесса и последующие лимфогенез/иммуногенез облигатно связаны с актом физического контакта, во-первых, между АПК и Т-хелперами и, во-вторых, между Т-хелперами и низкодифференцированными предшественниками (НДП) в костном мозге и тимусе.

Заключение. Предполагается, что появление Р- и N-нуклеотидов в АГ-специфических областях Т-/В-рецепторов и АТ связано с воспроизводством в АПК (здесь ДК) мини/микросателлитных олигоНЭ, которые далее в составе ДНК/РНК-векторов, ДНП/РНП, экзосомоподобных структур (или в свободном виде) переносятся согласно схеме АПК → Т-хелперы → НДП и служат основой для редактирования РНК/ДНК, репарации/репликации-скольжения ДНК и других процессов.

А.М. Дейчман

ВОЗМОЖНЫЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАЦИИ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. При фотодинамической терапии фотосенсибилизаторы (ФС) накапливаются в опухолевых клетках (ОК) почти избирательно, поглощают свет определенных длин волн, переходят в электрон-возбужденное состояние и генерируют фотохимическую реакцию. Появляется синглетный кислород (¹O₂), повреждающий молекулы-мишени (белки, ДНК/РНК, липиды и др.), мембраны и органеллы ОК. Однако те же ФС (здесь – мини-/микродозы фотодитазина, производное хлорина е6; высокие избирательность, скорость накопления/выведения, квантовый выход) и оптическое лазерное (здесь – низкоинтенсивное гелий-неоновое/арсенид-галлиевое) облучение способны воздействовать на компоненты крови (белки, липиды, полисахариды, гемоглобин) пациентов с раком легких, желудка, толстой кишки, молочной железы, почки, яичников и др., а также активировать O₂ → ¹O₂-переход.

Цель исследования. Ранее предложен внегеномный синтез олигонуклеотидов механизмом варибельной поэпитопной обратной трансляции (вПОТ): эпитоп белка в (5–10)_n аминокислот выполняет роль (псевдо) матрицы при синтезе мини-/микросателлитподобных нуклеиновых эквивалентов (НЭ), так называемых олигоНЭ эпитопа. Такой синтез, видимо, возможен в самоорганизующейся супрамолекулярной гипотетической частице «ретрансломе» (с нановключениями олигоНЭ и др.) и зависит не только от молекулярных составляющих, протон-электронных переносов, но и стандартных/модифицирующих потоков элементарных частиц (здесь – фотонов).

Материалы и методы. После трансфузии фотомодифицированной крови и последующей циркуляции ее в кровяном русле в.н. агенты и воздействия могут вызывать нормализующий эффект в отношении только тех биохимических и других процессов и систем организма (нервной, эндокринной и т. д.), структурно-функциональные свойства которых претерпели значительные отклонения (наблюдают: снижение боли, тяжести первичных лучевых реакций, побочных эффектов химиотерапии; ускорение регенерации облученных тканей; предупреждение постоперационных осложнений).

Результаты. Повреждающие и нормализующие эффекты коррелируют с высокими и низкими дозами активных форм кислорода (АФК), кислорода/азота, воспроизводимых в ОК (митохондриях и др.) при окислительно-восстановительных и других реакциях. Кроме того, эффекты сопровождаются генерацией возбужденных электронных состояний {атомов/(био)-(макро)-молекул}, а также поглощением и испусканием квантов света (хемо-/био-люминесценцией), переносом энергии.

Заключение. Повреждающее и сигнально-регуляторное воздействия могут реализоваться не только в результате прямого взаимодействия АФК с в.н. мишенями (быстро), но и опосредованно (дольше у части ОК), с привлечением мини-/микросателлитподобных олигоНЭ (продуктов вПОТ-механизма), потенциально способных принимать участие

в процессах пролиферации, дифференцировки, апоптоза, регуляции клеточного цикла, репликации, транскрипции и т. д.

А. М. Дёмин¹, Ю. В. Кузнецова², В. П. Краснов¹, А. А. Ремпель²
СИНТЕЗ ГИБРИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ Fe_3O_4 И НАНОЧАСТИЦ Ag_2S В БИМЕДИЦИНСКИХ ЦЕЛЯХ

¹ФГБУН «ИОС им. И. Я. Постовского УрО РАН», Екатеринбург;

²ФГБУН ИХТТ УрО РАН, Екатеринбург

Введение. В настоящее время магнитные наночастицы (МНЧ) и квантовые точки (КТ) достаточно часто используются в качестве мультимодальных платформ для получения на их основе диагностических и терапевтических препаратов, в первую очередь в онкологии. МНЧ часто используют в качестве материалов, усиливающих контраст при магнитно-резонансной томографии. Эмиссия КТ Ag_2S в близкой инфракрасной (ИК) области является основным преимуществом в визуализации клеток оптическими методами, так как в этой части диапазона автофлуоресценция клеток минимальна. Кроме того, преимуществом наночастиц Fe_3O_4 и Ag_2S является их низкая токсичность и возможность получения на их основе материалов в биомедицинских целях.

Цель исследования — получение гибридных наноматериалов на основе Fe_3O_4 и Ag_2S , сочетающих в себе как магнитные свойства МНЧ, так и оптические свойства КТ.

Материалы и методы. КТ Ag_2S и МНЧ Fe_3O_4 получали осаждением частиц из растворов соответствующих солей. КТ стабилизировали бычьим сывороточным альбумином (БСА), а для стабилизации МНЧ использовали N-(фосфонометил) иминодиуксусную кислоту (PMIDA). Методом динамического рассеяния света (Zetasizer Nano ZS) изучены гидродинамические характеристики полученных суспензий КТ и гибридных наночастиц (Fe_3O_4 -BSA- Ag_2S). Оптические свойства изучены при использовании UV-2401PC (Shimadzu). Fe_3O_4 -BSA- Ag_2S охарактеризованы данными ИК-спектроскопии (Nicolet 6700) и PCA (STADI-P, STOE).

Результаты. На 1-м этапе исследованы условия получения стабильных водных суспензий КТ на основе Ag_2S при использовании БСА и проведено исследование влияния количества БСА на стабильность получаемых суспензий Ag_2S -BSA. Показано, что для стабилизации 1 мг Ag_2S в воде (0,35 мг/мл) достаточно 0,1 мг БСА. В работе предложен новый метод синтеза гибридных наночастиц на основе Fe_3O_4 и КТ Ag_2S , заключающийся в нанесении на поверхность МНЧ БСА и осаждении в дальнейшем на белковом покрытии КТ. Для этого к коллоидному раствору Fe_3O_4 -PMIDA добавляли раствор БСА. Молекулы БСА содержат в своем составе как свободные карбоксильные, так и аминокислотные группы. Используемые в реакции Fe_3O_4 -PMIDA имеют высокий отрицательный поверхностный заряд, что увеличивает силу связывания молекул БСА с поверхностью за счет ионного взаимодействия между карбоксильными группами PMIDA и аминокислотными группами БСА. Осаждение КТ проводили по аналогии с методикой, разработанной на 1-м этапе работы путем добавления к наночастицам Fe_3O_4 -PMIDA-БСА последовательно Ag^+ и S^{2-} .

Заключение. Предложен новый метод синтеза МНЧ на основе Fe_3O_4 и КТ Ag_2S , заключающийся в нанесении

на поверхность МНЧ БСА и осаждении на белковом покрытии КТ. Полученные гибридные наноматериалы могут быть использованы для реализации новых подходов к визуализации клеток (том числе опухолевых) и изучения внутриклеточных процессов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 14-03-00146-а) и УрО РАН (№ 15-21-3-6).

А. М. Дёмин, М. А. Макаренко, В. П. Краснов

СИНТЕЗ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ RGD-ПЕПТИДА

¹ФГБУН «ИОС им. И. Я. Постовского УрО РАН», Екатеринбург

Введение. Производные RGD-пептида (содержащие в своей структуре фрагмент L-Arg-Gly-L-Asp) в настоящее время используются в качестве молекулярных векторов, обеспечивающих специфическую доставку препарата в опухолевые ткани за счет связывания с интегринами $\alpha_{IIb}/IIIa$, $\alpha_V\beta_3$, $\alpha_V\beta_5$, вовлеченными в процессы метастазирования опухоли и ангиогенеза. Конъюгация RGD-пептидов с терапевтическими и диагностическими агентами (противораковыми препаратами или наночастицами) может позволить получить высокоэффективные препараты для использования в онкологии.

Цель исследования — разработка синтетических подходов для получения производных KRGD- и GRGD-пептидов, которые в дальнейшем могут быть конъюгированы с магнитными наночастицами (МНЧ) для применения в магнитно-резонансной диагностике онкологических заболеваний.

Материалы и методы. В работе использовали классические методы пептидной химии в растворе. Синтез пептидов осуществляли путем последовательного наращивания пептидной цепи, исходя из диметилового эфира L-аспаргиновой кислоты. Строение и чистота полученных продуктов подтверждена данными ¹H ядерного магнитного резонанса (Bruker Avance 500), элементного анализа (Perkin Elmer PE 2400), HRMS (LCMS-2010 фирмы «Shimadzu») и обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (Agilent 1100, колонка Phenomenex Luna C-18).

Результаты. На 1-м этапе был оптимизирован метод синтеза RGD-пептида. Путем его конденсации с Fmoc-L-Lys (Boc) — OH или Fmoc-Gly при использовании TBUT в качестве конденсирующего агента получены избирательно защищенные производные KRGD и GRGD соответственно. Fmoc-группы удаляли 20 % пиперидином в метаноле, в результате чего получали пептиды со свободными аминокислотными группами. Далее проводили конденсацию с глутаровым ангидридом и получали целевые производные KRGD- и GRGD-пептидов, содержащие спейсеры со свободными карбоксильными группами соответственно. Защита функциональных групп пептида была выбрана таким образом, чтобы сохранить их биологические свойства и при этом обеспечить возможность их связывания с другими биомолекулами или материалами, например с поверхностью МНЧ в целях создания МРТ-контрастных препаратов для визуализации опухолевых тканей.

Заключение. Разработаны синтетические подходы для получения производных защищенных KRGD- и GRGD-пептидов, содержащих остатки глутаровой кислоты, при-