

в дозе 32 Гр (площади под кривой динамики роста опухоли составили 30,96 и 31,30 усл. ед. соответственно). Выигрыш в дозе за счет фотон-захватных событий на золоте составил 4 Гр, или 14,3 % от разовой очаговой дозы, при том что проведенные методом Монте-Карло расчеты предсказывали увеличение дозы всего на 5 %. Введение золотосодержащего соединения никак не сказалось на проявлении дополнительных кожных реакций.

Заключение. Проведенные исследования свидетельствуют о высокой биологической эффективности вторичного излучения, образующегося при реакциях фотон-захватного взаимодействия рентгеновского излучения и атомов золота.

Исследования проведены при финансовой поддержке РФФИ (проект № 14-44-03084).

*Е.Н. Кособокова¹, М.В. Пинюгина¹, А.И. Щербаков¹,
Е.В. Шешукова², Ю.Л. Дорохов², В.С. Косоруков¹*

ПОЛУЧЕНИЕ МОДЕЛИ СЛИТНЫХ БЕЛКОВ НА ОСНОВЕ АНТИТЕЛ И ЦИТОКИНОВ В ЦЕЛЯХ ИЗУЧЕНИЯ ВОЗМОЖНОСТИ ТАРГЕТНОЙ ДОСТАВКИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

¹ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

²НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва

Введение. Попытки уменьшить возникающую при сочетанном лечении кумулятивную иммуносупрессию применением интерферона α -2b (ИФНа-2b) не дали терапевтического выигрыша на фоне собственного побочного действия цитокина. Подход к решению указанной проблемы возможен при создании новой конструкции слитного рекомбинантного белка, в которой компонент мАТ к Her2 обеспечит направленную доставку и блокирование рецептора Her2, а цитокиновый компонент реализует собственное биологическое действие в зоне микроокружения опухоли.

Цель исследования – изучение модели гибридного белка на основе моноклональных гуманизированных антител против опухолевого антигена Her2 и ИФНа-2b человека (антиHer2 – чИФНа-2b).

Материалы и методы. Генно-инженерными методами модификации дезоксирибонуклеиновой кислоты и искусственного синтеза последовательностей были созданы 4 генетические конструкции, отличающиеся промоторными участками (промоторы 35S и промотор гена актина *Akt*) и длиной линкера между антителом и цитокином: 35S-Her2-L15-IFN, 35S-Her2-L6-IFN, Akt-Her2-L15-IFN, Akt-Her2-L6-IFN. В работе использована относительно простая, безопасная и малозатратная технология экспрессии рекомбинантных белков в листовой биомассе транзитивно трансфицированных растений (*Nicotiana benthamiana*). Очистку целевого белка проводили в несколько этапов: экстракция, фильтрация, аффинная хроматография, гель-фильтрация. Для оценки уровня экспрессии и идентификации белка использовали методы фореза полиакриламидным гелем и иммуноферментного анализа (ИФА). Была разработана методика оценки качества сборки гибридной конструкции, в соответствии с которой антиHer2-чИФНа-2b наносили на планшет с антителами против иммуногло-

булина G, а далее на гибридную конструкцию сажали антитела против чИФНа-2b, меченные пероксидазой хрена.

Результаты. Полученные результаты свидетельствуют об успешной экспрессии гибридного белка антиHer2-чИФНа-2b. Наибольший уровень экспрессии слитного белка был получен при использовании промотора гена актина *Akt*. Методом ИФА в различных исполнениях было доказано, что гибридный белок действительно содержит в составе одной белковой частицы полноразмерное антитело, имеющее аффинность к антигену Her2 и узнаваемое антителами против иммуноглобулинов человека, и домен чИФНа-2b, узнаваемый соответствующими антителами. На культуре клеток нормальных фибробластов 3Т3 было показано отсутствие цитотоксического эффекта терапевтических доз гибридного белка. В настоящее время ведутся работы по изучению биологической активности каждого из компонентов гибридной конструкции различными методами в целях оценки эффективности создания слитных белков подобной конфигурации.

Заключение. Полученные результаты подтверждают возможность успешного получения методом растительной транзиторной экспрессии сложных многокомпонентных белков, таких как слитные конструкции моноклональных антител с другими биологически активными белками, например чИФНа-2b. Дальнейшие исследования позволят оценить практическую перспективность данного подхода.

*А.И. Котельников, А.Ю. Рыбкин, Н.С. Горячев, А.Ю. Белик,
П.А. Михайлов, А.В. Жиленков, П.А. Трошин*

НОВЫЕ ПРИНЦИПЫ СОЗДАНИЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ГИБРИДНЫХ СТРУКТУР ФУЛЛЕРЕН–КРАСИТЕЛЬ ИППХ РАН, Черноголовка, Московская область

Введение. В медицинской практике для фотодинамической терапии широко используются производные порфиринов, фталоцианинов и хлоринов, которые при поглощении кванта света переходят в триплетное состояние, в результате чего генерируются активные формы кислорода и подавляется развитие опухолей. В рамках проведенных исследований обнаружено, что при объединении в одну гибридную структуру красителя и фуллерена энергия возбуждения красителя эффективно передается на фуллерен и с высокой эффективностью трансформируется в генерацию активных радикальных частиц. Это открывает возможность использовать для создания фотодинамических препаратов нового поколения красители, возбуждаемые не только в триплетное, но и в синглетное состояние. В результате значительно повышается фотодинамическая активность традиционных красителей и расширяются пути поиска новых красителей, удовлетворяющих широкому спектру разносторонних требований, предъявляемых к фотодинамическим препаратам.

Цель исследования – создание высокоэффективных фотодинамических препаратов нового поколения на основе ковалентных комплексов фуллерен – краситель.

Материалы и методы. Разработаны научные принципы и методы создания водорастворимых ковалентных структур фуллерен – краситель, в которых поглощение красителем кванта света приводит к переносу энергии или электрона

на фуллерен. Осуществлено ковалентное присоединение к производным фуллерена красителей флуоресцеина, эозина, противоопухолевого антибиотика рубоксила и других красителей. Методами стационарной и кинетической спектрофлуориметрии показано, что при возбуждении красителя в составе гибридной структуры в синглетное возбужденное состояние происходит эффективный перенос возбуждения или электрона с красителя на фуллерен с последующей генерацией активных форм кислорода. Фотодинамическая активность гибридных структур исследовалась в водных растворах и в структуре липосом по влиянию на дезоксирибонуклеиновую кислоту и клеточные культуры.

Результаты и выводы. Показано, что объединение в одну гибридную структуру красителя и фуллерена позволяет повысить фотодинамическую активность традиционных красителей в 5–50 раз или использовать красители, возбуждаемые только в синглетное состояние, что значительно расширяет возможности поиска оптимальных красителей для создания высокоэффективных фотосенсибилизаторов нового поколения.

Исследования поддержаны Программой Президиума РАН № 1 «Наноструктуры: физика, химия, биология, основы технологий» и грантом РФФИ № 16-34-01156-мол_а.

О.О. Красновская, В.М. Герасимов, Т.В. Иванишин, Ю.В. Федоров, А.Г. Мажуга, Е.К. Белоглазкина, Д.А. Скворцов, М.Э. Рубцова, О.А. Донцова, Н.В. Зык
НОВЫЕ КООРДИНАЦИОННЫЕ СОЕДИНЕНИЯ СО (II), CU (I, II) НА ОСНОВЕ ИМИДАЗОЛИН-4-ОНОВ, ОБЛАДАЮЩИХ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТЬЮ

ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва

Введение. Открытие цисплатина в 1965 г. положило начало широкому спектру исследований антипролиферативных свойств металлосодержащих координационных соединений. Измененный метаболизм опухолевых клеток и накопление ионов меди по сравнению со здоровыми тканями являются основой для разработки координационных соединений меди с антипролиферативной активностью. Координационные соединения Со, основного компонента витамина В₁₂, также представляются перспективными для разработки новых химиотерапевтических агентов.

Цель исследования – синтез координационных соединений Со (II), Cu (II) на основе 2-тиогидантоинов, 2-алкилтиоимидазолов, обладающих противоопухолевой активностью.

Материалы и методы: реактивы Sigma Aldrich, ядерный магнитный резонанс, масс-спектрокопия, инфракрасная спектрокопия, электрофорез в агарозном геле, МТТ-тест, конфокальная микроскопия, TUNEL, проточная цитометрия.

Результаты. Были получены серии лигандов и соответствующих координационных соединений Cu (I, II), Со (II), на основе 2-тиогидантоинов, 2-алкилтиоимидазолов, обладающих цитотоксичностью по отношению к опухолевым клеткам НЕК-293, MCF-7, SiHa. Исследовано соотношение структура – цитотоксичность полученных лигандов и координационных соединений. Показана способность смешанновалентных координационных соединений Cu (II),

Cu (I) накапливаться в клеточном ядре. Впервые получены лиганды на основе производных 2-алкилтио-5-(пиридилметил)-3,5-дигидро-4Н-имидазол-4-онов, содержащие фрагменты биотина и углеводов. Данные соединения являются перспективными в качестве векторных лигандов для направленной доставки в опухолевые клетки печени и молочной железы.

Заключение. В результате данной работы синтезированы перспективные координационные соединения Cu (II), Cu (I) на основе 2-тиогидантоинов, 2-алкилтиоимидазолов, обладающих противоопухолевой активностью, сравнимой с используемыми в клинической практике аналогами.

Авторы выражают благодарность Российскому научному фонду за поддержку исследований.

Н.В. Красногорова¹, Ю.Д. Хромина¹, Д.В. Новиков¹, С.Г. Фомина¹, Н.Н. Гурина¹, А.В. Алясова², П.А. Будай³, В.В. Новиков¹

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЕЙ ЭКСПРЕССИИ МАТРИЧНОЙ РИБОНУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ ГЕНОВ FcγRIIIα И FcγRIIIβ У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

¹ФГАУ ВО «ННГУ им. Н.И. Лобачевского»,

Нижний Новгород;

²ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава России, Нижний Новгород;

³ГБУЗ НО НОКОД, Нижний Новгород

Введение. Низкоаффинный рецептор FcγRIII представлен 2 генами: FcγRIIIα и FcγRIIIβ, которые являются паралогичными и идентичны на 98 %. Известно, что уровень белка CD16 изменяется в сыворотке крови при онкологических заболеваниях и может служить важным прогностическим показателем при мониторинге этих патологий. Однако особенности изменений уровней экспрессии генов FcγRIIIα и FcγRIIIβ являются мало изученными, и остается непонятным, какой из генов вносит вклад в повышение сывороточного уровня растворимого CD16 у больных колоректальным раком (КРР).

Цель исследования – сравнение уровней экспрессии матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) генов FcγRIIIα и FcγRIIIβ у больных КРР.

Материалы и методы. В работе использовали периферическую кровь 23 больных КРР и 24 здоровых лиц. С помощью специфичных праймеров проводили раздельное определение уровней мРНК генов FcγRIIIα и FcγRIIIβ методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией с детекцией в реальном времени относительно референтного гена UBC с красителем Cy5 и гасителем RTQ2.

Результаты. Установлено, что как у здоровых лиц, так и у больных КРР уровень мРНК FcγRIIIα превышал уровень мРНК FcγRIIIβ в 3,3 и 2,8 раза соответственно. При этом у больных КРР в периферической крови наблюдалось снижение уровня мРНК FcγRIIIα и повышение уровня мРНК FcγRIIIβ ($p < 0,05$) по сравнению со здоровыми лицами. В исследуемой группе 16 пациентов получали полихимиотерапию. После лечения у больных КРР наблюдалось повышение средних значений уровней мРНК FcγRIIIα в 1,37 раза и мРНК FcγRIIIβ в 1,23 раза по сравнению с уровнями мРНК генов FcγRIII до лечения. Однако наблюдаемые изменения не были статистически значимы.