

А.А. Липенгольц^{1,2}, А.А. Черепанов^{1,2},

Е.Ю. Григорьева¹, В.Н. Кулаков²

**ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ
КОМПЛЕКСА ВИСМУТА
С ДИЭТИЛЕНТРИАМИНПЕНТАУКСУСНОЙ
КИСЛОТОЙ В БИНАРНОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ**

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

²ФГБУ ГНЦ «ФМБЦ им. А.И. Бурназяна», Москва

Введение. Бинарная лучевая терапия является перспективным таргетным избирательным методом лечения злокачественных новообразований. В основе метода лежит преимущественное взаимодействие внешнего рентгеновского излучения с химическими элементами, имеющими порядковый номер в периодической таблице более 52. Такое взаимодействие обеспечивает избирательное поражение только опухолевых тканей при облучении. Вероятность взаимодействия рентгеновского излучения с химическими элементами возрастает с увеличением порядкового номера элемента. Висмут является химическим элементом с самым высоким порядковым номером из всех стабильных химических элементов. По этой причине перспективным может быть применение комплексов висмута в бинарной лучевой терапии злокачественных новообразований.

Цель исследования — изучение противоопухолевой эффективности комплекса висмута с диэтилентриаминпентауксусной кислотой ДТПА (Bi-DTPA) в бинарной лучевой терапии опухолей.

Материалы и методы. Исследование проводили на мышах-самках линии C57BL6 с трансплантированными в правую заднюю голень опухолями. В качестве опухолевых моделей были использованы аденокарцинома молочной железы Ca755 и меланома B16F10. Облучение проводили на 8–9-е сутки после перевивки по достижению объема опухолей $0,3 \pm 0,1$ см³. Непосредственно перед облучением животным интратуморально вводили исследуемый комплекс в объеме 0,05 мл. Облучение проводили на рентгеновском аппарате с напряжением 110 кВ и мощностью дозы в позиции облучения 0,8 Гр/мин. Величина поглощенной дозы для меланомы B16F10 составляла 20 Гр, а для аденокарциномы молочной железы Ca755 — 15 Гр. Контролем в исследовании служили группы животных, облученных в той же дозе излучения, что и опытные группы, а также группа, на которую никакого воздействия не осуществлялось.

Результаты. Оценку противоопухолевого эффекта проводили по индексу торможения роста опухоли (ТРО) и по логарифму погибших клеток (LgN). В опытных группах ТРО на 14-е сутки после облучения составило 90 и 91 % для B16F10 и Ca755 соответственно, тогда как в контрольных облученных группах — 77 и 73 % соответственно. LgN для опытных групп с B16F10 и Ca755 составил 2,79 и 1,27 соответственно, в облученных контрольных группах — 0,66 и 1,08 соответственно.

Заключение. Полученные результаты показывают значимое увеличение противоопухолевого эффекта рентгеновского облучения при введении комплекса висмута с ДТПА и говорит о перспективности использования комплекса висмута в бинарной лучевой терапии.

Н.А. Лыжко^{1,2}, Ю.П. Финашутина^{1,2}, В.А. Мисюрин^{1,2},

О.Н. Солопова¹, А.В. Мисюрин, Л.А. Кесаева^{1,2},

О.С. Бурова¹, М.А. Барышникова¹

**ЦИТОСТАТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ
МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ 5D3F2 И 6H8F12
К БЕЛКУ PRAME ПРИ ИХ СОВМЕСТНОМ
ИНКУБИРОВАНИИ С КУЛЬТУРАМИ
ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК**

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

²ООО «ГеноТехнология», Москва

Введение. Белок PRAME может быть перспективной мишенью для противоопухолевой иммунотерапии, так как не экспрессируется в здоровых клетках, но активен в опухолевых клетках многих гистологических типов. Нами были разработаны мышинные моноклональные антитела (MoAT) 5D3F2 и 6H8F12, распознающие эпитопы PRAME.

Цель исследования — определение эффектов, оказываемых MoAT 5D3F2 и 6H8F12 на PRAME-экспрессирующие опухолевые клетки.

Материалы и методы. Использовали линии опухолевых клеток K562, THP-1 и NOMO-1. Методом RQ-PCO определяли уровень экспрессии гена *PRAME*. Количество клеток, имеющих эпитопы белка PRAME на поверхности, определяли на проточном цитометре. Проводили инкубирование опухолевых клеток с MoAT 5D3F2 и 6H8F12 вместе и по отдельности в концентрациях 111 и 112 мкг/мл, 11 и 12 мкг/мл соответственно. Проводили подсчет клеток после инкубирования с MoAT. Количество мертвых клеток оценивали при проведении МТТ-теста.

Результаты. Уровень экспрессии гена *PRAME* в клетках линий K562, THP-1 и NOMO-1 составил 104; 1,6 и 0,5 % соответственно. Количество клеток K562, THP-1 и NOMO-1, имеющих белок PRAME на поверхности, составило 14; 3 и 0,9 % соответственно. При инкубировании клеток K562 и THP-1 с MoAT 5D3F2 и 6H8F12 вместе и по отдельности в концентрации 11 и 12 мкг/мл соответственно наблюдалось замедление роста на 15–20 % и гибель 15–20 % клеток. При инкубировании K562 и THP-1 с MoAT 5D3F2 и 6H8F12 вместе и по отдельности в концентрации 111 и 112 мкг/мл соответственно наблюдалось замедление роста на 50 % и гибель 4 % клеток. При инкубировании NOMO-1 с MoAT 5D3F2 и 6H8F12 вместе в концентрации 11 и 12 мкг/мл соответственно наблюдалось замедление роста на 30 % и гибель 10 % клеток. При инкубировании NOMO-1 с MoAT 5D3F2 в концентрации 111 мкг/мл замедления роста не наблюдалось; с 6H8F12 в концентрации 112 мкг/мл — наблюдалось замедление роста на 30 % и не происходило гибели клеток.

Заключение. Обнаружено цитостатическое и цитотоксическое действие MoAT 5D3F2 и 6H8F12 в концентрации 111 и 112 мкг/мл, оказываемое на опухолевые клетки линий K562, THP-1 и NOMO-1. Меньшая концентрация в некоторых случаях оказывала более выраженный эффект. При инкубировании опухолевых клеток со смесью MoAT усиления эффектов не наблюдалось. Чем выше уровень экспрессии гена *PRAME* в клетках и чем большее число клеток имело на поверхности эпитопы PRAME, тем больший эффект оказывали MoAT. Цитотоксичность MoAT в отсутствие белков комплемента и иммунных клеток мо-

жет объясняться рецепторной функцией белка PRAME, находящегося на поверхности опухолевой клетки.

А.А. Макашов, А.П. Козлов

РАЗЛИЧНЫЕ КЛАССЫ ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫХ ГЕНОВ ЧЕЛОВЕКА ОБЛАДАЮТ РАЗЛИЧНОЙ ЭВОЛЮЦИОННОЙ НОВИЗНОЙ

Биомедицинский центр, Санкт-Петербург;

ФГАОУ ВО СПбПУ, Санкт-Петербург

Введение. Ранее мы показали, что человеческий геном содержит многие эволюционно новые гены и/или нуклеотидные последовательности, которые экспрессируются опухолеспецифически либо преимущественно в опухолях.

Цель исследования. В данной работе планировалось изучить эволюционную новизну различных классов опухолеассоциированных генов человека.

Материалы и методы. Были изучены следующие функциональные классы генов человека: гены домашнего хозяйства; онкогены; дифференцировочные гены; гены опухолевых супрессоров; гены, ассоциированные с различными опухолями; гены опухолевых антигенов, отобранных для создания противоопухолевой вакцины; гомеозисные гены; гены, вовлеченные в апоптоз; гены раково-тестикулярных антигенов; белковые гены и гены некодирующих РНК с высокой опухолеспецифичностью, выявленные нами с помощью метода глобального вычитания *in silico* (ГВ); все аннотированные белоккодирующие гены человека. Для определения эволюционной новизны вышеперечисленных генов были применены программы HomoloGene, release68, ProteinHistorian, BLAST и HMMER.

Результаты. Для каждого функционального класса генов была построена кривая филогенетического распределения их ортологов. Самое верхнее положение на графике заняла кривая, описывающая филогенетическое распределение ортологов генов домашнего хозяйства. Ниже нее расположились кривые филогенетического распределения ортологов дифференцировочных генов, онкогенов, генов, ассоциированных с различными опухолями, и генов опухолевых супрессоров. Эта группа кривых формирует первый кластер. Промежуточное положение на графике занимает кривая распределения ортологов всех белоккодирующих генов человека. Под ней располагается второй кластер, включающий в себя кривые филогенетического распределения генов апоптоза, гомеозисных генов, опухолевых антигенов и белковых генов, выявленных с помощью ГВ. Самое нижнее положение на графике занимает группа кривых таксономического распределения ортологов генов раково-тестикулярных антигенов (всех и расположенных только на X-хромосоме), генов некодирующих РНК, выявленных ГВ. Эта группа является 3-м кластером, включающим в себя эволюционно наиболее новые гены.

Заключение. Нами обнаружено, что различные классы опухолеассоциированных генов обладают различной эволюционной новизной. Мы подтвердили существование генов *TSEEN* (*tumor specifically expressed, evolutionarily novel*). Параллельная эволюция онкогенов, генов опухолевых супрессоров и дифференцировочных генов свидетельствует о роли опухолей в происхождении новых клеточных типов.

Разобшенность кривых, принадлежащих к первому и второму кластерам, свидетельствует о разобшенности процессов образования новых типов клеток и морфогенеза. Различные подклассы генов *TSEEN* принадлежат к описанному нами выше 3-му кластеру.

С.Ю. Маклакова, В.В. Гопко, Г.А. Шипулин,

Т.С. Зацепин, Е.К. Белоглазкина, Н.В. Зык,

А.Г. Мажуга, В.Э. Котелянский

СИНТЕЗ ЛИГАНДОВ АСИАЛОГЛИКОПРОТЕИНОВОГО РЕЦЕПТОРА ДЛЯ НАПРАВЛЕННОЙ ДОСТАВКИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В КЛЕТКИ ПЕЧЕНИ

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

Введение. Паренхимными клетками печени в больших количествах (0,5–1 млн на 1 гепатоцит) экспрессируется асиалогликопротеиновый рецептор (ASGPR). Способность ASGPR переносить через мембрану высокомолекулярные структуры, его уникальное расположение исключительно на поверхности гепатоцитов, высокая степень экспрессии, быстрый цикл регенерации делают его перспективной мишенью для адресной доставки биологически активных веществ в паренхимные клетки печени. Исходя из структурных особенностей рецептора, ранее были предложены молекулы-векторы разветвленного строения, содержащие 3 остатка галактозы или N-ацетилгалактозамина. Такие тривалентные лиганды продемонстрировали высокую аффинность по отношению к рецептору-мишени.

Цель исследования — синтез тривалентных лигандов ASGPR и исследование возможности получения конъюгатов на их основе с помощью медькатализируемой реакции азид-алкинового циклоприсоединения.

Материалы и методы. Состав и строение полученных соединений подтверждали с помощью спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и масс-спектрометрии. ЯМР-спектры ^1H и ^{13}C регистрировали на приборах Bruker DPX-300 и Agilent 400 MR с частотами 400 и 100 МГц. Масс-спектры высокого разрешения регистрировали на приборе Bruker micrOTOF II методом электрораспылительной ионизации (ESI). В работе использовали коммерческие реактивы (Sigma-Aldrich) без дополнительной очистки.

Результаты. Нами оптимизирована общая методика получения тривалентных лигандов ASGPR, универсальность которой была продемонстрирована на примере синтеза структур, содержащих различные углеводные остатки (N-ацетилгалактозамин, N-ацетилглюкозамин и N-ацетилманнозамин). Использованный подход позволяет получать лиганды с азидной группой, что открыло возможность конъюгирования данных соединений-векторов с модельным олигонуклеотидом dT₂₀, содержащим терминальную тройную связь, с помощью медькатализируемой реакции азид-алкинового циклоприсоединения.

Заключение. Лиганды, полученные в результате данной работы, обладают высоким потенциалом как векторные фрагменты для направленной доставки биологически активных веществ в клетки печени. Введение азидной группы в структуру позволяет селективно и с высокими выходами получать конъюгаты с терапевтическими молекулами.

Работа выполнена при поддержке РФФ (грант № 14-34-00017).