

товленной фосфорилирующей смесью при атмосферном давлении, температуре 20–60 °С, в течение 1–14 сут. Структуру, состав и размеры полученных образцов исследовали методами потенциометрического титрования, инфракрасной спектроскопии и ³¹P-спектроскопии ядерного магнитного резонанса, элементного анализа, рентгенофазового анализа, сканирующей электронной микроскопии и атомно-силовой микроскопии.

Результаты. При фосфорилирования в вышеописанных системах были получены фосфаты целлюлозы с содержанием фосфорнокислых групп в интервале 0,2–4,9 ммоль/г, степенью набухания 2,4–119 г/г, относящиеся к классу малотоксичных веществ, способные к гелеобразованию. Результаты исследований показали, что содержание фосфора и степень набухания в значительной степени зависят от продолжительности реакции и температуры процесса. При этом следует отметить, что увеличение температуры и времени реакции способствует накоплению фосфора, в то время как степень набухания проходит через максимум. Так, максимум набухания (112 г/г) фосфатов целлюлозы, полученных при 30 °С, достигается при фосфорилировании в течение 6 сут, а при 40 °С (119 г/г) – за 4 сут.

Заключение. На основании проведенных исследований предложен способ получения биодеструктурируемых полимеров на основе высокозамещенных фосфатов целлюлозы, которые могут быть использованы в качестве носителей противоопухолевых веществ в силу их физико-химических свойств.

С.М. Мирошниченко, А.Н. Дударев, Т.А. Ткаченко, А.Ю. Городецкая, С.И. Давыденко, И.Ф. Усыйин

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСА СТАУРОСПОРИНА С АПОЛИПОПРОТЕИНОМ А-1 НА КЛЕТЧНУЮ ПРОЛИФЕРАЦИЮ

ФГБНУ «НИИ биохимии», Новосибирск

Введение. Стауроспорин (СТ) является противоопухолевым препаратом, способным вызывать апоптоз опухолевых клеток с фенотипом лекарственной устойчивости. Однако его использование затруднено в связи с цитотоксичностью по отношению к здоровым клеткам и плохой фармакокинетикой. Создание липосом с более низкими концентрациями СТ позволило снизить его токсичность. Аполипопротеин А-1 (АпоА-1), основной белок липопротеинов высокой плотности (природные переносчики), имеет амфипатические α-спирали, способные связывать плохо растворимые в воде молекулы. Показана его роль в транспорте холестерина, гормонов, жирорастворимых витаминов, ксенобиотиков.

Цель исследования — изучить влияние комплекса СТ с АпоА-1 на удвоение ДНК высокопролиферирующих клеток.

Материалы и методы. Липопротеины выделяли из плазмы крови человека методом изоплотного ультрацентрифугирования в растворе КВг. АпоА-1 экстрагировали смесью бутанола с диизопропиловым эфиром с последующим высаливанием сульфатом аммония. Чистоту АпоА-1 оценивали с помощью электрофореза в полиакриламидном геле. Пролиферацию клеток оценивали по включению [³H]-тимидина («Изотоп», Россия) в ДНК. Для этого за 2 ч до окончания эксперимента в культуральную среду вноси-

ли 2,0 мКю/мл. Радиоактивность проб измеряли на жидкостном сцинтилляционном счетчике Mark-III (США). Скорость биосинтеза ДНК рассчитывали в импульсах в 1 мин на 10⁶ клеток. Клетки линии ТНР-1 и мышинной меланомы В16-F10 культивировали в среде RPMI-1640 («ПанЭко», Россия) в присутствии СТ или комплекса СТ с АпоА-1 в течение 4 ч, концентрация СТ (Sigma) изменялась от 0,5 до 0,005 мКМ.

Результаты. Анализ тушения флуоресценции триптофана в АпоА-1 под влиянием СТ указывает на связывание данного индуктора апоптоза с белком. Полученный комплекс был стабилен в течение исследуемого периода (1 мес) и сохранял способность ингибировать включение [³H]-тимидина в ДНК клеток линии ТНР-1 при меньшей концентрации антибиотика в комплексе с АпоА-1. Комплекс усиливал СТ-индуцированный апоптоз клеток линии ТНР-1. Для исследования включения [³H]-тимидина в ДНК (S-фаза) клеток меланомы В16-F10 использовали СТ в концентрации от не влияющей на данный показатель (0,05 мКМ) до ингибирующей на 70 % (0,5 мКМ). В комплексе с АпоА-1 в первом случае ингибирование составило 41 % от контрольного уровня. Повышение концентрации СТ до 0,1 мКМ в среде культивирования снижало включение [³H]-тимидина на 38 %, комплекс усиливал ингибирующий эффект до 56 %. В дальнейшем СТ в комплексе с АпоА-1 снижал включение [³H]-тимидина в ДНК клеток в большей степени, чем СТ сам по себе.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования АпоА-1 для доставки СТ в высокопролиферирующие клетки.

В.А. Мисюрин¹, А.В. Мисюрин¹, Н.А. Лыжко¹, Т.В. Ахлынина¹, Ю.П. Финашуткина¹, Л.А. Кесаева¹, А.В. Пономарёв¹, А.Е. Мисюрина², А.А. Крутов², Е.Н. Пушкова¹, О.С. Бурова¹, А.С. Уварова¹, М.А. Барышникова¹

БЕЛОК PRAME СПОСОБЕН ВЛИЯТЬ НА ЭКСПРЕССИЮ СОБСТВЕННОГО ГЕНА

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

²ФГБУ ГНЦ Минздрава России, Москва

Введение. Экспрессия гена *PRAME* при онкологических заболеваниях наблюдается очень часто. Активность белка *PRAME* оказывает негативное влияние на прогноз. Известно, что *PRAME* способен связываться с бактериальными липополисахаридами и пептидогликанами (PAMPs). Данный белок состоит из лейцин-богатых повторов и имеет структуру, сходную с TLR2 (толл-подобный рецептор 2) и белком RI (ингибитор рибонуклеаз). Известно, что TLR2 через NF-κB активирует экспрессию гена *TLR2*. Согласно современным представлениям, экспрессия гена *PRAME* запускается при связывании неизвестного поверхностного рецептора с PAMPs. Мы располагаем данными, доказывающими наличие белка *PRAME* на поверхности клетки. Мы предполагаем, что мембраносвязанный белок *PRAME* связывается с PAMPs и передает сигнал внутрь клетки, что приводит к активации экспрессии многих генов, в том числе и гена *PRAME*. Кроме того, *PRAME*, подобно белку RI, может обладать способностью защищать РНК от тепловой деградации.