

Цель исследования — доказать способность белка PRAME регулировать экспрессию гена *PRAME*.

Материалы и методы. Выравнивание последовательностей аминокислотных остатков проводилось в программе Vector NTI 10.0. Инкубировали 1 мкг тотальной РНК здорового донора в присутствии 0,1 мкг PRAME и 0,1 мкг RI в течение 12 ч при 37 °С, после оценивали целостность при проведении электрофореза. Клеточные линии ТНР-1 и NОМО-1 инкубировали с анти-PRAME моноклональными антителами (АТ) и PAMPs, использованными в качестве лигандов, в течение 3 сут. Количество белка PRAME внутри клеток, обработанных сапонином, и на внешней мембране клеток, не обработанных сапонином, определяли методом проточной цитофлуориметрии на цитометре FACSCanto II.

Результаты. PRAME и TLR2 имеют 24,6 % аналогичных аминокислотных остатков, а PRAME и RI — 25,8 %. Произошла полная деградация мРНК в отсутствие PRAME и RI, в то время как с этими белками мРНК не разрушалась. В линии ТНР-1 через 1 и 3 дня инкубирования с АТ уровень экспрессии *PRAME* составил 150 и 50 %; с PAMPs — 81 и 57 % соответственно. Через 3 дня инкубирования с АТ и PAMPs количество клеток с белком PRAME на мембране составило 50 и 170 %, а с белком PRAME в цитоплазме — 1085 и 732 % соответственно. В линии NОМО-1 уровень экспрессии мРНК гена *PRAME* после 1 и 4 ч, 1, 2 и 3 дней инкубирования с АТ составил 90, 147, 7, 119 и 95 %; с PAMPs — соответственно 104, 239, 16, 125 и 113 %. Количество клеток с белком PRAME в цитоплазме через 1 и 4 ч, 1, 2 и 3 дня инкубирования с АТ составило 187, 58, 26, 32 и 88 %; с белком PRAME на мембране — 76, 66, 110, 1067 и 222 % соответственно; после инкубирования с PAMPs количество клеток с PRAME в цитоплазме составило 127, 185, 102, 40 и 240 %; с PRAME на мембране — 97, 87, 173, 617 и 166 % соответственно.

Заключение. PRAME, так же как и RI, способен защищать РНК от деградации. Более того, PRAME проявил способность модулировать экспрессию собственного гена и белка, как это характерно для TLR2.

Н.А. Михеева¹, М.А. Семенова¹, Г.С. Терентюк^{1,2}, В.А. Михеев³, Е.П. Дрожжина¹, Н.А. Курносова¹

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СИНХРОНИЗИРОВАННЫХ РАКОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ВВЕДЕНИИ ЗОЛОТЫХ НАНОЧАСТИЦ *IN VITRO*

¹ФГБОУ ВПО УлГУ, Ульяновск;

²ФГБОУ ВПО «СГУ им. Н.Г. Чернышевского», Саратов;

³ФГБОУ ВПО «УлГПУ им. И.Н. Ульянова», Ульяновск

Введение. Наномедицина и нанофармация разрабатывают механизмы доставки лекарственных веществ, новые методы и средства лечения, методы *in vivo* и *in vitro* диагностики. Ведущей областью применения этих разработок является онкология. Особое место среди наноразмерных материалов занимают золотые наночастицы (ЗНЧ). Оценка клеточных эффектов является особенно важной вследствие наноразмерности действующих агентов, которые непосредственно воздействуют на клеточные структуры. В то же время показатели функционального состояния митохондрий, отражающие адекватность энергопродукции

для поддержания нормального метаболизма клеток, и интенсивность генерации активных форм кислорода (АФК) как показатель выраженности патологических процессов в клетке остаются неизученными.

Цель исследования — изучить влияние ЗНЧ на некоторые метаболические изменения синхронизированных по периодам клеточного цикла клеток *in vitro*.

Материалы и методы. Использована клеточная линия карциномы толстого кишечника НСТ-116. Синхронизацию клеток проводили с помощью двойного тимидинового блока. В культуру клеток вносили 3,125 мкл 10 нм ЗНЧ (концентрация 0,5 г/л) с добавлением 0,5 мл среды. Митохондриальный потенциал клеток НСТ-116 определяли с использованием флуоресцентного красителя ТМРЕ. Концентрацию АФК определяли с использованием флуоресцентного красителя DCFH-DA. Флуоресценцию изучали в клетках контрольной группы и после 30- и 60-минутной инкубации с ЗНЧ.

Результаты. Инкубация клеток НСТ-116 с ЗНЧ длительностью 30 и 60 мин не сопровождается значительными метаболическими изменениями митохондрий, о чем свидетельствует отсутствие достоверных различий в показателях флуоресценции зонда ТМРЕ в периоды М, G1 и S. Период G2 через 30 мин инкубации с ЗНЧ характеризуется достоверным увеличением митохондриального потенциала, который затем (через 60 мин) уменьшается. Клеточный цикл НСТ-116 при 30-минутном нахождении ЗНЧ в культуре характеризуется достоверным снижением флуоресценции зонда DCFH-DA. Период G2 клеток с ЗНЧ характеризуется меньшим значением флуоресценции по сравнению с клетками контрольной группы. Часовая культивация раковых клеток НСТ-116 с ЗНЧ приводит к 3-кратному снижению продукции АФК в этих клетках в периоды G1, S и G2, М-период клеток через 30 и 60 мин инкубации с ЗНЧ отличается более высокой концентрацией АФК по сравнению с клетками контрольной группы.

Заключение. ЗНЧ в культуре раковых клеток в течение 1 ч не обуславливает развитие оксидативного стресса клеток и не приводит к функциональным нарушениям митохондрий, рост концентрации АФК в М-период в клетках с ЗНЧ будет индуцировать апоптоз раковых клеток, препятствуя их делению.

Д.В. Мищенко¹, М.Е. Неганова², Е.Н. Климанова¹, Т.Н. Сашенкова¹, У.Ю. Аллаярова¹, П.А. Тараканов², И.В. Высторон¹

ХЕМОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ СПИРОЦИКЛИЧЕСКИХ ГИДРОКСАМОВЫХ КИСЛОТ ПРИ КОМБИНИРОВАННОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ ЛИМФОЛЕЙКОЗА Р388

¹ФГБУН ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область;

²ФГБУН ИФАВ РАН, Черноголовка, Московская область

Введение. Одним из способов повышения эффективности и снижения токсичности известных цитостатиков может стать использование циклических гидроксамовых кислот (ЦГК) в комбинированной химиотерапии. В данном случае возможно использование известных, но весьма токсичных цитостатиков (цисплатин, циклофосфан) в ми-

нимальной субтерапевтической дозе, а введением в комбинацию хемосенсибилизатора можно добиться повышения ее эффективности в предотвращении развития опухоли.

Цель исследования — изучение противоопухолевой и хемосенсибилизирующей активности полученных рацемических ЦГК на экспериментальных лекарственно-чувствительных опухолях мышей.

Материалы и методы. Противоопухолевую активность изучали на лимфолейкозе Р388 мышей линии BDF1. Критерием эффективности лечения служило увеличение средней продолжительности жизни.

Результаты. Изучены 2 ряда ЦГК на основе аминокислот Gly, Ala, Val, Leu, содержащих тетраметилзамещенный или N-метилзамещенный спирооперидиновый фрагмент. Показано, что в каждом ряду ЦГК, содержащих односторонний спирооперидиновый фрагмент, наибольшую хемосенсибилизирующую активность при терапии лейкемии Р388 проявляют кислоты валинового ряда. Это позволяет сделать вывод о том, что наличие объемной изопропильной группы в имидазольном цикле соединений ряда 1-гидрокси-1,4,8-триазаспиро[4.5]декан-2-она способствует значительному повышению их адъювантной способности на экспериментальной модели Р388. ЦГК, полученные на основе 1-метилпиперидона-4, обладают меньшей острой токсичностью, чем кислоты, полученные на основе триацетонамина, и являются более эффективными хемосенсибилизаторами. Установлено, что изученные ЦГК не обладают прямым антиоксидантным действием в реакции с тиобарбитуровой кислотой, но, являясь хелаторами ионов железа, могут проявлять опосредованное влияние при окислительном стрессе и модулировать действие различных металлопротеаз, участвующих в канцерогенезе. Методом квантово-химических расчетов провели теоретический анализ влияния структуры исследуемых ЦГК на их хелатирующую способность, полученные данные были подтверждены в экспериментах *in vivo*.

Заключение. Использование ЦГК в комбинированной химиотерапии может стать одним из способов повышения эффективности и снижения токсичности известных цитостатиков.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 14-03-00687 А).

*Л.Ф. Морозова, Н.М. Сураева, О.С. Бурова,
М.А. Барышников*

ПОЛУЧЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК КЛЕТОК СУБКЛОНА МЕЛАНОМНОЙ ЛИНИИ ЧЕЛОВЕКА MEL IBr ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ В РОСТОВОЙ СРЕДЕ С НИЗКОЙ КОНЦЕНТРАЦИЕЙ ЭМБРИОНАЛЬНОЙ ТЕЛЯЧЬЕЙ СЫВОРОТКИ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва

Введение. Злокачественная опухоль представляет собой гетерогенную популяцию клеток на различных стадиях дифференцировки. Многообразие нарушений, происходящих в клетке в процессе опухолевой прогрессии, требует создания адекватной модели для исследования стадий онкогенеза. При культивировании клеток меланомной линии человека Mel Ibr в ростовой среде со сниженным содержанием эмбриональной телячьей сыворотки

до 5 % нами были обнаружены 2 морфологически различные субпопуляции клеток.

Цель исследования — получение одного из субклонов клеток данной линии и оценка его морфологических, иммунологических и цитогенетических характеристик в целях создания новой клеточной модели для изучения опухолевой прогрессии.

Материалы и методы. Клетки меланомной линии Mel Ibr адаптировали к росту в питательной среде RPMI-1640 с добавлением 5 % эмбриональной телячьей сыворотки в течение 3–5 пассажей. Затем клетки рассеивали с низкой плотностью в чашки Петри для получения колоний. Колонии из веретеновидных клеток извлекали и культивировали на протяжении длительного времени (до 60 пассажей) в такой же ростовой среде. Морфологические, иммунологические и цитогенетические исследования проводили на различных пассажах.

Результаты. Клетки субклона отличались морфологией от родительской популяции: имели значительно меньший размер, веретеновидную форму с длинными отростками, большим ядром, занимающим практически всю цитоплазму, и характеризовались интенсивным ростом. Иммунологические отличия проявлялись в уменьшении процента HLA-DR и CD54-положительных клеток, увеличением CD63 и появлением CD133-положительных клеток.

Заключение. Клетки субклона могут рассматриваться как модель для изучения опухолевой прогрессии.

*Н.Б. Морозова¹, Е.А. Плотникова¹, А.Д. Плутинская¹,
М.А. Грин², А.Ф. Миронов², Р.И. Якубовская¹*

ФОТОИНДУЦИРОВАННАЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ НА ОСНОВЕ ХЛОРОФИЛЛА А В СИСТЕМАХ *IN VITRO* И *IN VIVO*

¹МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ НМИРЦ

Минздрава России, Москва;

²ФГБОУ ВО МИРЭА, Москва

Введение. Известно, что на поверхности опухолевых клеток присутствуют рецепторы, распознающие все типы углеводов. Среди них особое место занимают галектины, представляющие собой белки семейства лектинов, специфичные к β-галактозидам. Их специфичность обусловлена наличием белков консервативного углеводов-узнающего домена. Поэтому β-галактозидные заместители способны улучшить направленную доставку фотосенсибилизаторов (ФС) путем связывания с галектинами на поверхности клетки.

Цель исследования — сравнительное изучение фотоиндуцированной активности триметилового эфира хлорина е6 и его производного с остатком галактозы в пирроле А в системах *in vitro* и *in vivo*, их биораспределения и накопления в опухолевой и окружающей тканях животных.

Материалы и методы. В качестве ФС использовали триметиловый эфир хлорина е6 (3MeChl) и конъюгат на его основе с остатком галактозы в пирроле А (3MeChl_{gal}). Изучение фотоиндуцированной активности проводили в системе *in vitro* относительно опухолевых клеток мышечной карциномы легкого Льюиса (Lewis lung carcinoma, LLC) в мультипараметрической системе. Биологически значимым эффектом считали ингибирование роста клеток в культуре