



ИССЛЕДОВАНИЕ ПОРФИРАЗИНОВОГО КРАСИТЕЛЯ В КАЧЕСТВЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ И ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ЗОНДА ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ЛОКАЛЬНОЙ ВЯЗКОСТИ

Коньгин К.А.¹, Шилягина Н.Ю.¹, Лермонтова С.А.^{1,2}, Клапшина Л.Г.^{1,2}, Воловецкий А.Б.¹, Балалаева И.В.¹

¹ФГАОУ ВО ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; ²Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, Нижний Новгород, Россия

final2345678909@yandex.ru

Фотодинамическая терапия является современным минимально инвазивным терапевтическим методом, базирующимся на принципе селективного цитотоксического повреждения опухолей. Несмотря на то, что фотодинамическая терапия активно развивается и область применения данного вида терапии все время расширяется, нерешенной остается задача раннего контроля эффективности данной терапии. В качестве одного из подходов, направленных на контроль протекания фотодинамической терапии, в настоящее время предлагается использование флуорофоров, сочетающих свойства фотосенсибилизаторов и молекулярных роторов. Отличительной особенностью данных соединений является выраженная корреляция между их флуоресцентными свойствами и вязкостью среды, что позволяет их использовать также в качестве зондов локальной вязкости в клетках живых организмов.

Целью нашей работы стало исследование возможности использования тетра(4-бензилоксифенил) тетрацианопорфиразина в качестве фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии и флуоресцентного зонда внутриклеточной локальной вязкости в системе *in vitro*.

В ходе работы было показано, что порфиразин поглощает и флуоресцирует в области «окна прозрачности» биологических тканей и демонстрирует свойства флуоресцентных молекулярных роторов, то есть характеризуется сильной зависимостью времени жизни возбужденного состояния и квантового выхода флуоресценции от вязкости среды. Кроме того, было показано, что в присутствии альбумина квантовый выход флуоресценции порфиразина значительно возрастает.

Основными местами внутриклеточной локализации порфиразина являются везикулярные образования и плазматическая мембрана. В экспериментах *in vitro* продемонстрирована низкая темновая и высокая фотодинамическая активность порфиразина в отношении клеток A431 эпидермоидной карциномы кожи человека. С помощью время разрешенного-имиджинга *in vitro* и *in vivo* нами было зарегистрировано увеличение времени жизни возбужденного состояния порфиразина в опухолевых клетках, подвергавшихся фотодинамическому воздействию.

Таким образом, тетра(4-бензилоксифенил) тетрацианопорфиразин является потенциальным фотосенсибилизатором для фотодинамической терапии онкологических заболеваний и может быть использован в качестве флуоресцентного зонда внутриклеточной локальной вязкости в системе *in vitro*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (проект МК 980.2017.4, проект №14.Z50.31.0022).

БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МАЛЫХ ЯДРЫШКОВЫХ РНК КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА, ЗАРАЖЁННЫХ ВИРУСОМ ГРИППА

Летова И. А.¹, Сысоева М. А.¹, Шах Махмуд Р.²

¹ФГБОУ ВО Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Россия; ²ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

letovairal995@mail.ru

Малые ядрышковые РНК (мякРНК) – класс коротких некодирующих РНК (нкРНК) размером 60-300 нуклеотидов. МякРНК по строению подразделяются на 2 семейства: C/D – семейство, участвуют в метилировании рибозы, и H/ACA – семейство, которые изомеризуют уридин в процессе созревания рРНК и малых ядерных РНК. Помимо этих функций малые ядрышковые РНК участвуют в других процессах, например, в альтернативном сплайсинге, являются



предшественниками других коротких нкРНК, в регуляции экспрессии мРНК и участвуют в различных нарушениях, возникающих в организме человека. При вирусной инфекции клетки-хозяева меняют профиль собственных малых нкРНК, как механизм защиты от воздействия вируса. Вирусы обходят механизмы защиты хозяев для активации собственной репликации, влияя на экспрессию ряда мякРНК хозяина. Поэтому, определение профилей малых нкРНК в ответ на вирусную инфекцию является одним из важных инструментов для понимания взаимодействия вирус-хозяин и разработки противовирусной стратегии. В связи с этим, целью работы явилось описание профилей малых ядрышковых РНК клеток человека, зараженных вирусом гриппа и обработанных противовирусным препаратом, с помощью биоинформатических методов.

В работе были использованы эпителиальные клетки легких человека клеточной линии A549, инкубированные с пандемическим вирусом гриппа (H1N1pdm) и клетки линии A549, инкубированные с тем же вирусом гриппа, обработанные противовирусным препаратом. Для выделения всех РНК исследуемых клеток применен коммерческий реагент TRIzol Reagent (Thermo Fisher, США). Малые нкРНК выделили с помощью магнитных частиц AgencourtAMPure (BeckmanCoulter, США). Для этого проводили предварительную 2-х минутную инкубацию РНК при 70°C, добавили 0,5 объема магнитных частиц к 1 объему РНК и выполнили последовательную очистку РНК от примесей после магнитной обработки с помощью 100% изопропанола и 75% этанола по стандартному методу выделения РНК. Секвенирование выполняли на секвенаторе «SOLiD 5500xl wildfire» (Thermo Fisher Scientific, США). Для биоинформатического анализа использовали базы данных «Ensemble», «snoRNAbase», «snoDB» и «snoRNAAtlas». В качестве референсного генома выбрали полный геном человека (GCA_000789425.2).

Обнаружено 222 вида мякРНК из них 32,4% относятся к H/ACA-семейству и 67,5% относятся к C/D-семейству. Из 222 видов мякРНК 57 встречаются и в контрольных и опытных образцах. Установлено, что экспрессия SNORD 104 у вирус зараженных клеток увеличена более чем в 3 раза, экспрессия SNORD 18 у вирус зараженных клеток увеличена более чем в 2 раза, что свидетельствует об изменении профиля мякРНК при заражении вирусом.

ОСТАТОЧНАЯ ДЫХАТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИЙ ПРИ БЛОКИРОВКЕ ЯДАМИ

Львов А.М.¹, Фролова М.С.¹, Векшин Н.Л.¹

¹ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

delinor0@gmail.com

При окислении НАДН в дыхательной цепи митохондрий в нормальных физиологических условиях потребление кислорода осуществляется практически только на цитохромоксидазе. Тем не менее, по разным данным, от 0,1 до 1% кислорода всё же может потребляться не на цитохромоксидазе, а на НАДН-оксидазе. При обратном переносе электронов в дыхательной цепи на НАДН-оксидазе может потребляться до 5% кислорода. Однако, многие клетки организма при патологиях попадают в весьма экстремальные условия. Интересно понять, каковым может быть вклад НАДН-оксидазы в дыхание митохондрий в особых экстремальных условиях. При блокировке дыхательной цепи антимицином в присутствии НАДН наблюдается повышенная продукция супероксида.

В данной работе полярографическим методом было проведено сравнительное изучение дыхания суспензии печеночных митохондрий при добавлении НАДН или сукцината натрия в экстремальных условиях: в гипотонической среде и при блокировке ядами - ротеноном, антимицином и азидом.

Показано, что заметное потребление кислорода при окислении добавленного НАДН идёт не только на цитохромоксидазе, но и на НАДН-дегидрогеназе дыхательной цепи. Именно поэтому НАДН-оксидазная активность подавляется ядами не полностью, а на 80-90%. Нечувствительная к ядам дыхательная активность является результатом шунтирования электронов с НАДН на кислород на НАДН-дегидрогеназе. При этом образуется опасный супероксид или перекись водорода.

Также мы показали, что в гипотонии азид или антимицин ингибируют НАДН-зависимое дыхание МХ одинаково сильно, но не полностью, а ротенон ингибирует значительно сильнее. Обращает внимание на себя тот факт, что даже сочетание всех трёх ядов не ингибирует процесс