

ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНО-КЛИНИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ
ФМБА РОССИИ
КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ



В ПОИСКАХ МОДЕЛЕЙ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ

СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ
V МЕЖДУНАРОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
“ПОСТГЕНОМ’2018”

КАЗАНЬ, 29 октября – 2 ноября 2018



**Казанский
федеральный**
УНИВЕРСИТЕТ

Москва — Казань
2018

УДК 61
ББК 5
В11

*Печатается по решению Учебно-методической комиссии
Института фундаментальной медицины и биологии КФУ*

Научный редактор
доктор биологических наук, профессор, академик РАН
В.М. Говорун

Рецензенты:
доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН
М.А. Лагарькова
доктор биологических наук, профессор РАН
Е.Н. Ильина

В11 В поисках моделей персонализированной медицины. Сборник научных трудов V Международной конференции «ПОСТГЕНОМ'2018».
29 октября – 2 ноября 2018, – Казань: Издательство Казан. ун-та. 2018. – 340 с.

ISBN 978-5-0013-065-6

Сборник научных трудов включает материалы пленарных лекций, симпозиальных докладов, выступлений на заседаниях круглых столов и стендовых докладов, представленных на V Международной конференции «ПОСТГЕНОМ'2018» «В поисках моделей персонализированной медицины», состоявшейся 29 октября – 2 ноября 2018 года в Казани, на базе Казанского (Приволжского) федерального университета.

Тематика представленных докладов охватывает актуальные разделы биомедицины: omics-ные технологии; медицинскую информатику и цифровую медицину; регенеративную медицину; поиск и моделирование лекарственных средств; новые технологии лабораторной диагностики; исследование микробиоценозов; персонализированные подходы в лечении, профилактике и реабилитации в кардиологии, онкологии, урологии, репродукции человека.

Книга рассчитана не только на специалистов, работающих в разных областях биомедицинских наук, но и на студентов, аспирантов, преподавателей и научных работников, интересующихся проблемами наук о жизни, а также специалистов практической медицины.

УДК 61
ББК 5

ISBN 978-5-0013-065-6

© ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России, 2018
© Издательство Казанского университета, 2018

615.01

НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ АКТИВАТОРЫ p53 – ВЛИЯНИЕ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ И СЕКРЕЦИЮ ЦИТОКИНОВ**Е.А. Змиевская, Р.М. Саярова, А.Х. Валиуллина, Э.Р. Булатов***Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия*

p53 известен как онкосупрессорный белок и транскрипционный фактор, играющий ключевую роль в защите клетки против рака. В ответ на различные виды клеточного стресса активация p53 может привести как к остановке клеточного цикла, так и к индукции апоптоза. ЕЗубиквитин-лигаза MDM2, негативный регулятор белка p53, путем убиквитинирования способствует его протеасомальной деградации. Широко известен низкомолекулярный ингибитор MDM2 — Nutlin-3a, способный блокировать действие MDM2, таким образом, активируя p53. Целью нашего исследования являлось определение влияния стимуляторов иммунного ответа (форбол-12-миристинат-13-ацетата, фитогемагглютинаина, конканавалина А и липополисахарида) в комбинации с Nutlin-3a на p53-зависимые процессы неспецифической активации мононуклеарных клеток периферической крови человека (МКПК). Материалы и методы: Выделение МКПК проводилось по методу осаждения на градиенте фиколла, клетки инкубировались в присутствии стимуляторов и Nutlin-3a в течении суток. Затем методами ОТ-ПЦР в реальном времени и ИФА (Вектор-бест) проводилось определение уровня экспрессии и секреции ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИФН-гамма, ФНО-альфа. В результате обнаружено, что добавление высокоселективного активатора p53 (Nutlin-3a) к неспецифически активированным МКПК приводит к выраженному изменению уровня экспрессии и секреции основных регуляторных цитокинов, аналогично действуя и при отсутствии активации. Во всех случаях явно прослеживается тенденция к повышению экспрессии генов и секреции цитокинов вне зависимости от их функциональной роли в иммунном ответе. *Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00702.*

Ключевые слова: p53, иммунный ответ, Nutlin-3a, регуляция иммунного ответа.

Литература

1. Haaland, I., Opsahl, J. A., Berven, F. S., Reikvam, H., Fredly, H. K., Haugse, R., Thiede, B., McCormack, E., Lain, S., Bruserud, O., et al. (2014) Molecular mechanisms of nutlin-3 involve acetylation of p53, histones and heat shock proteins in acute myeloid leukemia. *Mol. Cancer* 13, 116
2. Neeraj K., Heerak C., Ravi T., Vartika T., Singh V.K., Chandra R. (2018) Exploring the interplay between autoimmunity and cancer to find the target therapeutic hotspots. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 46(4):658-668

УДК 615.01

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ p53 С МУТАЦИЕЙ Y220C ПРИ ПОМОЩИ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СТАБИЛИЗАТОРОВ**Р.М. Саярова, Р.Н. Мингалева, Р.Р. Хадиуллина, А. Хамад, В.В. Часов, Р.Ф. Хайруллин, Р.Р. Мифтахова, А.А. Ризванов, Э.Р. Булатов***Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия*

Онкосупрессорный белок p53 мутирован примерно в 50% случаев опухолевых заболеваний человека. Онкогенная миссенс-мутация Y220C является девятой наиболее распространенной для p53 и встречается в 100 тысячах случаев регистрируемых опухолевых заболеваний ежегодно. Подобная мутация приводит к частичной денатурации третичной структуры p53, нарушая его транскрипционную активность. Однако, восстановить функциональную активность p53(Y220C) мутанта в опухолевых клетках возможно с помощью селективных низкомолекулярных реактиваторов. В рамках данного проекта в коллаборации с научным коллективом из университета Саутгемптона (Великобритания) было разработано низкомолекулярное соединение MB725, на данный момент представляющее собой самый активный стабилизатор p53(Y220C) мутанта из всех известных. Для исследования восстановления утраченной функциональной активности p53(Y220C) мутанта в опухолевых клетках посредством воздействия селективных низкомолекулярных реактиваторов мы используем современные междисциплинарные методы и подходы, включая органический синтез, методы структурной, клеточной и молекулярной биологии. Клеточная линия p53^{-/-} MCF7 и мутантная p53(Y220C) линия были получены с помощью технологии редактирования генома CRISPR/Cas9. Цитотоксичный эффект исследуемых веществ был оценен методом колориметрического MTS-теста. Кроме этого, была определена аффинность взаимодействия (Kd) MB725 и его аналогов с рекомбинантным белком p53 и p53(Y220C) мутантом методом поверхностного плазмонного резонанса. *Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00702.*

Ключевые слова: низкомолекулярные реактиваторы, p53, онкология, мутация.

Литература

1. Boeckler, F.M. Targeted rescue of a destabilized mutant of p53 by an in silico screened drug / F.M. Boeckler, A.C. Joerger, G. Jaggi, T.J. Rutherford, D.B. Veprintsev, A.R. Fersht // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. - 2008. - V. 105. - I. 30. - P. 10360–10365.
2. Joerger, A.C. The tumor suppressor p53: from structures to drug discovery / A.C. Joerger, A.R. Fersht // Cold Spring Harbor perspectives in biology. - 2010. - V. 2. - I. 6. - P. a000919.
3. Vousden, K.H. Live or let die: the cell's response to p53 / K.H. Vousden, X. Lu // Nature reviews. Cancer. - 2002. - V. 2. - I. 8. - P. 594–604.

УДК 615.01

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЕ АКТИВАТОРОВ p53 НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ
ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК****Ю.В. Игнатъев, Р.М. Саярова, А.А. Ризванов, Э.Р. Булатов***Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия*

Транскрипционный фактор p53 представляет собой онкосупрессорный белок, который активируется в ответ на различные типы клеточного стресса и является ключевым в защите клетки против рака. При этом p53 регулирует экспрессию генов, белковые продукты которых приводят к остановке клеточного цикла, старению или апоптозу. В большинстве опухолей наблюдается инактивация p53, одной из причин которой может быть сверхэкспрессия негативных регуляторов p53 – к примеру, E3 убиквитин-лигазы MDM2. В норме, при отсутствии клеточного стресса, происходит убиквитинирование p53 с последующей протеосомальной деградацией. Активную роль при этом играет белок MDM2, сверхэкспрессия которого нарушает процесс p53-опосредованной клеточной гибели опухолевых клеток. Применение селективных низкомолекулярных ингибиторов белок-белкового взаимодействия p53-MDM2, блокирующих MDM2, позволяет повысить уровень p53 в клетке и активировать его транскрипционные функции. Целью данного проекта является изучение биологических свойств комплекса на основе химического каркаса оснований Шиффа изатина с медью(II), представляющих собой ингибиторы взаимодействия p53-MDM2. Для определения жизнеспособности опухолевых клеток линии аденокарциномы молочной железы MCF-7 с p53 дикого типа и нокаутной линии MCF-7(p53^{-/-}) был использован колориметрический MTS-тест и био-сенсорный клеточный анализатор xCELLigence (ACEA Biosciences, США) для анализа пролиферативной активности клеток в режиме реального времени. Количественный анализ изменения уровня экспрессии p53-зависимых генов PUMA, MDM2, CDKN1A(p21) и белка p53 в опухолевых клетках под воздействием исследуемого вещества проводился методом ОТ-ПЦР в реальном времени и иммуноблотинга соответственно. Также была проведена оценка уровня апоптоза в опухолевых клетках под воздействием ингибитора MDM2 с помощью проточной флуориметрии. В результате было показано, что комплекс основания Шиффа изатина с медью с большей селективностью действует на клетки с p53 дикого типа, приводя к его активации, что подтверждает предполагаемый механизм действия в качестве ингибитора MDM2. Исследуемое вещество оказывает цитотоксическое действие, вызывая апоптоз опухолевых клеток. *Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №18-34-00702.*

Ключевые слова: активаторы, p53, онкология, MDM2.**Литература**

1. Davidovich, P. Discovery of Novel Isatin-Based p53 Inducers / P. Davidovich, V. Aksenova, V. Petrova, D. Tentler, D. Orlova, S. Smirnov et al. // ACS Med Chem Lett. - 2015. - V. 6. P. 856–860.
2. Cerchiaro, G. Isatin-Schiff base copper(II) complexes and their influence on cellular viability / G. Cerchiaro, K. Aquilano, G. Filomeni, G. Rotilio, M. R. Ciriolo, A. M. Da Costa Ferreira // Journal of Inorganic Biochemistry. - 2005. - V. 99. -P. 1433–1440.
3. Filomeni, G. Pro-apoptotic Activity of Novel Isatin-Schiff Base Copper(II)
4. Complexes Depends on Oxidative Stress Induction and Organelle-selective Damage / G. Filomeni, G. Cerchiaro, A. M. Da Costa Ferreira, A. De Martino, J. Z. Pedersen, G. Rotilio, M. R. Ciriolo // THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY. - 2007. - V. 282. -P. 12010–12021.