

Министерство науки и высшего образования РФ  
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования  
**«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Направление: 06.04.01 – биология

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ  
**НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ АКТИВАТОРЫ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ  
ФУНКЦИЙ Р53 В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ**

Работа завершена:

«06» июня 20119 г.

(Р. Сабуни)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель

д.б.н., с.н.с.

«06» июня 20119 г.

(А.А. Ризванов)

Заведующий кафедрой

д.б.н., с.н.с.

«06» июня 20119 г.

(В.М. Чернов)

## СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b>	<b>4</b>
<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	<b>6</b>
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b>	<b>8</b>
1.1 Функция p53	8
1.2 Структура p53	9
1.3 Регуляция p53	11
1.3.1 Пост-трансляционные модификации	11
1.3.2 Протеолитическое расщепление	12
1.4 Гены мишени p53	16
1.5 Стабилизация p53 путем ингибирования взаимодействия MDM2-p53	18
<b>ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ</b>	<b>22</b>
<b>2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ</b>	<b>22</b>
2.1 Материалы	22
2.2 Методы работы с культурой клеток	23
2.2.1 Культуры клеток человека, условия культивирования	23
2.2.2 Пассирование клеточных культур	24
2.2.3 Криоконсервация клеток	24
2.2.4 Обработка клеток исследуемыми соединениями	25
2.2.5 Анализ цитотоксичности соединений методом MTS-теста	25
2.2.6 Оценка изменения внутриклеточного уровня белка p53 под действием основания Шиффа и его медного комплекса методом иммуноблоттинга	26
2.3 Оценка активации транскрипционных функций белка p53 под действием комплекса в p53- положительной клеточной линии MCF7 методом люциферазного анализа	28
2.4 Количественная оценка экспрессии генов методом ПЦР в реальном времени.	29
2.4.1 Выделение общей РНК	29
2.4.2 Обратная транскрипция	29

2.4.3 Полимеразная цепная реакция в реальном времени	30
<b>3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ</b>	<b>33</b>
3.1 Комплекс основания Шиффа изатина с медью (II) снижает жизнеспособность и пролиферативную активность клеток линий MCF7 и HCT116	33
3.2 Cu(II) комплекс основания Шиффа изатина повышает уровень p53 и влияет на экспрессию генов-мишеней белка p53 в MCF7	34
3.3 Cu(II) комплекс основания Шиффа изатина активирует белок p53 и его транскрипционные функции в клетках MCF7	38
<b>ВЫВОДЫ</b>	<b>40</b>
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ</b>	<b>41</b>

## ВВЕДЕНИЕ

p53 является мощным транскрипционным фактором и играет центральную роль в регуляции клеточного цикла, апоптоза, репарации ДНК, старения и ангиогенеза. p53 является одним из наиболее изученных человеческих белков из-за его жизненно важной роли в качестве опухолевого супрессора.

Белок p53 является привлекательной мишенью при лечения рака, поскольку он может быть функционально активирован для удаления опухоли. Ген, кодирующий белок p53, мутирован или удален примерно в половине случаев рака, диагностируемых у человека, что инактивирует его супрессорную активность. В остальных опухолях с белком p53 дикого типа, его функция эффективно ингибируется посредством прямого взаимодействия с его негативным регулятором белком MDM2, который приводит к деградации p53 26S протеасомой. Применение селективных низкомолекулярных ингибиторов белок-белкового взаимодействия p53-MDM2, блокирующих активный участок MDM2, позволяет повысить уровень p53 в клетке и активировать его транскрипционные функции.

Разработка и изучение биологических свойств низкомолекулярных активаторов транскрипционных функций p53 имеет высокую актуальность ввиду необходимости создания противоопухолевых лекарственных препаратов на основе данного механизма действия.

Целью работы является установить биологические свойства низкомолекулярных активаторов транскрипционных функций p53 дикого типа, действующих по механизму ингибирования взаимодействия p53-MDM2, синтезированных на основе химического каркаса оснований Шиффа изатина, разработанные коллегами в лаборатории А.В. Гарабаджиу (СПбГТИ(ТУ), Санкт-Петербург, Россия).

Для достижения цели поставлены следующие задачи:

- 1) Оценить влияние производного основания Шиффа изатина и его координационного комплекса с ионами Cu(II) на жизнеспособность и

пролиферацию опухолевых клеток линий с p53 дикого типа аденокарциномы молочной железы MCF7 и колоректального рака HCT116.

- 2) Оценить изменение внутриклеточного уровня белка p53 под действием производного основания Шиффа изатина и его координационного комплекса с ионами Cu(II).
- 3) Количественно проанализировать изменение уровня экспрессии p53-зависимых генов *PUMA*, *MDM2*, в опухолевых клетках под действием производного основания Шиффа изатина и его координационного комплекса с ионами Cu(II) в клеточных линиях MCF7 и HCT116.
- 4) Оценить активацию транскрипционных функций белка p53 под действием комплекса в p53-положительной клеточной линии MCF7.



## СПРАВКА о результатах проверки текстового документа на наличие заимствований

Проверка выполнена в системе  
**Антиплагиат.ВУЗ**

Автор работы	Сабуни РАЗАН
Подразделение	
Тип работы	Магистерская диссертация
Название работы	Низкомолекулярные активаторы транскрипционных функций p53 в опухолевых клетках
Название файла	Сабуни Р..docx
Процент заимствования	16,80%
Процент цитирования	1,01%
Процент оригинальности	82,19%
Дата проверки	18:56:27 03 июня 2019г.
Модули поиска	Сводная коллекция ЭБС; Коллекция РГБ; Цитирование; Модуль поиска переводных заимствований; Коллекция eLIBRARY.RU; Коллекция ГАРАНТ; Модуль поиска Интернет; Модуль поиска "КПФУ"; Коллекция Медицина; Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU; Модуль поиска перефразирований Интернет; Модуль поиска общеупотребительных выражений; Кольцо вузов
Работу проверил	Бабынин Эдуард Викторович
ФИО проверяющего	
Дата подписи	05.06.2019
	 Подпись проверяющего

Чтобы убедиться  
в подлинности справки,  
используйте QR-код, который  
содержит ссылку на отчет.



Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего. Предоставленная информация не подлежит использованию в коммерческих целях.