графическим интерфейсом, разработанным в Matlab совместно с ImageJ для индивидуального подсчета фокусов с использованием анализа изображений. Также было апробировано бесплатное программное обеспечение с открытым исходным кодом для количественного анализа биологических изображений Cell Profiler 2.0. При апробировании программ сравнивались их возможности анализировать интенсивность флюоресценции ядра клетки, а также количество, площадь и интенсивность флюоресценции фокусов в ядре клетки. Параметр «количество фокусов», подсчитанных программами сравнивался с подсчётом вручную, произведенным тремя независимыми пользователями. Были выявлены преимущества и недостатки программ, а также определены наиболее оптимальные алгоритмы работы в программах для анализа параметров фокусов.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-315-00213.

Г.Н. Сингина*, И.Ю. Лебедева, Е.Н. Шедова, А.В. Лопухов

ВЛИЯНИЕ ЛЮТЕОТРОПНЫХ ФАКТОРОВ НА СОСТОЯНИЕ ХРОМОСОМ В СТАДИИ МЕТАФАЗЫ-II ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ООЦИТЫ КОРОВ ВО ВТОРУЮ ФАЗУ СОЗРЕВАНИЯ IN VITRO

Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста, Подольск, Россия

G.N. Singina*, I.Yu. Lebedeva, E.N. Shedova, A.V. Lopukhov

EFFECTS OF LUTEOTROPIC FACTORS ON THE STATE OF METAPHASE-II CHROMOSOMES WHEN EXPOSED TO BOVINE OOCYTES IN THE SECOND PHASE OF IN VITRO MATURATION

L.K. Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry, Podolsk, Russia

*g_singina@mail.ru

Вторая фаза созревания ооцитов in vitro, охватывающая период от метафазы I до метафазы II, критически важна для приобретения ими компетенции к эмбриональному развитию. В представленной работе было изучено влияние двух лютеотропных факторов — прогестерона (ПГ) и пролактина (ПРЛ) — в начале и середине второй фазы созревания ооцитов коров на частоту аномальных изменений хромосом на стадии метафазы-II (M-II). Ооцит-кумулюсные комплексы (ОКК) культивировали в течение 12 или 16 ч. в стандартной среде созревания (ТС-199, содержащей 10% фетальной бычьей сыворотки (ФБС), 10 мкг/мл ФСГ и 10 мкг/мл ЛГ). Для завершения созревания ооцитов ОКК переносили в среду ТС-199, содержащую 10% ФБС (система 1) или 3 мг/мл БСА (система 2). В обеих системах в среду опытных групп вносили 50 нг/мл ПГ (Sigma, США) или 50 нг/мл ПРЛ (Эндокринологический научный центр, Москва). Общее время культивирования во всех группах составляло 24 ч. Для проведения цитогенетического анализа ооциты фиксировали по методу Тарковского. К деструктивным изменениям хромосом на стадии M-II относили деконденсацию, частичное слипание и образование единой комковатой массы. После культивирования в стандартной среде относительное число ооцитов, достигших стадий анафазы-I или телофазы-I, составляло 3,1±1,6 (12 ч.) и 31,8±1,8% (16 ч). Через 24 ч созревания доля яйцеклеток, находящихся на стадии M-II мейоза, была сходной во всех экспериментальных группах и достигала 83,2–94,4%. При воздействии на ооциты в начале второй фазы созревания (через 12 ч.) ПГ и ПРЛ в обеих системах уменьшали частоту аномальных изменений хромосом на стадии M-II с 30,2–30,3% (контроль) до 14,5–17,7% (P<0,01). Ингибирующее действие гормонов на хромосомные нарушения (P<0,01) также наблюдали при их внесении в систему 1 в середине второй фазы созревания ооцитов (через 16 ч.). В этот же период культивирования в системе 2 только ПГ снижал долю яйцеклеток с деструктивными изменениями хромосом (с 31,7±2,7 до 20,0±2,5%, P<0,01). Таким образом, во вторую фазу созревания ооцитов коров ПГ и ПРЛ оказывают тормозящее влияние на аномальные модификации хромосом, механизм которого, очевидно, различается.

Исследования, связанные с началом и серединой второй фазы созревания ооцитов, выполнены при финансовой поддержке, соответственно, РНФ (проект 16-16-10069) и РФФИ (проект 17-29-08035).

П.Е. Умрюхин[2]*, Н.Н. Вейко[1], Е.С. Ершова[1, 2], Е.М. Жесткова[4], Н.В. Захарова[3], А.В. Мартынов[1], Г.В. Шмарина[1], А.В. Артюшин[1], С.В. Костюк[1, 2]

ПРИ ШИЗОФРЕНИИ ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ДНК С ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ГЦ-БОГАТЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ МОЖЕТ АКТИВИРОВАТЬ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ПРОЦЕСС ЧЕРЕЗ TLR9 РЕЦЕПТОРЫ

[1] *Медико-генетический научный центр имени Н.П. Бочкова, Москва, Россия*
[2] *Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия*
[3] *Психиатрическая клиническая больница № 1 им. Н.А. Алексеева ДЗ г. Москвы, Москва, Россия*
[4] *Психиатрическая клиническая больница № 4 им. П.Б. Ганнушкина ДЗ г. Москвы, Москва, Россия*

P.E. Umriukhin[2]*, N.N. Veiko[1], E.S. Ershova[1, 2], E.M. Zhestkova[4], N.V. Zakharova[3], A.V. Martynov[1], G.V. Shmarina[1], A.V. Artyushin[1], S.V. Kostyuk[1, 2]

IN SCHIZOPHRENIA CELL-FREE DNA WITH A HIGH CONTENT OF GC RICH SEQUENCES MAY ACTIVATE INFLAMMATION THROUGH TLR9 RECEPTORS

[1] *Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia*
[2] *I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia*
[3] *Psychiatric Clinical Hospital № 1 named after N.A. Alekseev HCD, Moscow, Russia*
[4] *Psychiatric Clinical Hospital № 4 named after P.B. Gannushkin HCD, Moscow, Russia*

*pavelum@mail.ru

Патогенез шизофрении включает воспаление и нарушение ДНК. Окислительный стресс, сопровождающий прогрессию шизофрении, может приводить к окислению и разрывам ДНК ядер лимфоцитов. В исследование включены 100 больных параноидной формой шизофрении и 80 здоровых доноров. Методом проточной цитофлоуриметрии с флуоресцентно-меченными антителами в В-лимфоцитах анализировали содержание маркера окисления ДНК 8-гидрокси-2'-деоксигуанозина (8-oxodG)

и фосфорилированной формы гистона H2AX, фланкирующего двунитевые разрывы. Выявлено, что лимфоциты крови больных шизофренией содержат повышенный уровень окислительных модификаций и двунитевых разрывов, что приводит к гибели клеток с поврежденной ДНК и пополнению пула внеклеточной (вкДНК). При обострении заболевания почти в 2 раза ($p<0,01$) возрастает концентрация вкДНК плазмы, которая может служить интегральным показателем гибели клеток организма и биологически активной молекулой клеточной сигнализации. Биологическая активность вкДНК увеличивается при повышении уровня ГЦ-богатых последовательностей в ее составе, при этом вкДНК может активировать провоспалительный NF-kB-сигнальный путь через TLR9-рецепторы. Показано, что вкДНК больных шизофренией содержит достоверно больше копий ГЦ-богатой высококопийной последовательности рибосомного повтора (рРНК кодирующей ДНК, или рДНК), по сравнению со здоровыми людьми ($p<0,001$). В лимфоцитах больных шизофренией увеличивается экспрессия TLR9 ($p<0,01$) и обнаруживаются признаки воспаления. У 87% больных шизофренией обнаружено аномально повышенное содержание орозомукоида — маркера активного воспаления. Таким образом, обострение шизофрении сопровождается повышенной гибелью клеток крови из-за окислительных модификаций и двунитевых разрывов ДНК, что приводит к увеличению концентрации вкДНК с повышенным уровнем рибосомного ГЦ-богатого повтора, содержащего лиганды для TLR9. ВкДНК при шизофрении может активировать воспалительный процесс через TLR9-рецепторы.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-29-06017 офи_м.

О.А. Федорова*, Е.Ю. Смирнов, О.Ю. Шувалов, А.А. Дакс, Н.А. Барлев

ВЛИЯНИЕ ЭКСПРЕССИИ PIRH2 НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ДОКСОРУБЦИНУ В КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ HER2-ПОЗИТИВНОГО ПОДТИПА

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

O. Fedorova*, E. Smirnov, O. Shuvalov, A. Daks, N. Barlev

EFFECT OF PIRH2 EXPRESSION ON DOXORUBCINE SENSITIVITY IN THE CELL LINES OF BREAST CANCER HER2-POSITIVE SUBTYPE

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, Russia

*fedorovaolgand@gmail.com

Her2 (известный также как HER2-neu, ErbB-2 (ERBB2), CD340) является тирозиновый протеинкиназой семейства эпидермального фактора роста. Повышение экспрессии данного гена сопровождается изменением нижележащих каскадов, что в свою очередь, приводит к прогрессированию рака молочной железы, высоким риском рецидива, а также появлением метастаз. Her2 является важным биомаркером и терапевтической мишенью. Таким образом, изучение факторов, влияющих на чувствительность к химиопрепаратам Her2-позитивного подтипа рака молочной железы, является важной задачей для современной медицины, а детальное изучение молекулярных механизмов развития резистентности внесет важный вклад в фундаментальные исследования. Наши биоинформатические данные выявили, что экспрессия Pirh2 (p53-зависимая убиквитин-лигаза) достоверно коррелируют с выживаемостью пациентов с HER2-положительным подтипом РМЖ. Целью данной работы было исследовать влияние E3-убиквитинлигазы PIRH2 на чувствительность к доксорубицину, который используется в качестве терапии РМЖ Her2-позитивного подтипа. С помощью MTT-метода мы определили выживаемость клеток с разным статусом PIRH2 в присутствии доксорубицина. На нескольких клеточных линиях было показано, что экспрессия PIRH2 способствует большей чувствительности клеток к доксорубицину. Кроме того, с помощью прибора xCELLigence (ACEA Biosciences) были построены кривые роста двух клеточных линий РМЖ с подавленной экспрессией PIRH2. Добавление доксорубицина к клеточным линиям с подавленной экспрессией PIRH2 практически не влияло на кривые роста, в отличие от контрольных клеточных линий. Что также свидетельствует о том, что экспрессия PIRH2 способствует большей чувствительности клеток к доксорубицину. Кроме того, мы оценили с помощью ПЦР в реальном времени экспрессию проапоптатических генов таких как Puma, Bax, Bad. Наши эксперименты показали снижение экспрессии Bax в случае нокдауна гена PIRH2 после добавления доксорубицина, что может свидетельствовать о снижении уровня апоптоза в случае подавлении экспрессии PIRH2, а значит и большей выживаемости клеток после добавления доксорубицина.

Работа выполнена при финансовой поддержки гранта РНФ 18-75-10076

Я.Ю. Чернорыж[1*], Н.Е. Федорова[1], К.И. Юрлов[1], А.В. Иванов[2], А.А Кущ[1]

СОЧЕТАННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО АНТИБИОТИКА ДОКСОРУБИЦИНА И ИНГИБИТОРА MTOR — РАПАМИЦИНА ВОССТАНАВЛИВАЕТ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КЛЕТОК ЛЕЙКЕМИИ THP-1, ИНФИЦИРОВАННЫХ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСОМ, И СНИЖАЕТ ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ ДОКСОРУБИЦИНА

[1] *НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия*
[2] *Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия*

Ya.Yu. Chernorizh[1*], N.E. Fedorova [1], K.I. Yurlov[1], A.V. Ivanov[2], A.A. Kushch[1].

COMBINED APPLICATION OF ANTI-TUMOR ANTIBIOTIC DOXORUBICIN AND INHIBITOR MTOR — RAPAMICINE RESTORES THE SENSITIVITY OF LEUKEMIA CELLS THP-1 INFECTED WITH HUMAN CYTOMOGALOVIRUS AND REDUCES THE DOXORUBICIN CYTOTOXICITY

[1] *Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, the Ministry of Health of the RF, Moscow, Russia*
[2] *Engelhardt Institute of Molecular Biology RAS, Moscow, Russia*

*Revengeful_w@mail.ru

Доксорубицин (ДОКС) является эффективным и широко используемым противоопухолевых препаратом. Однако его клиническое применение ограничено из-за кардиотоксичности и негативного действия на ряд других клеток