

экспрессии сенсоров STIM не влияло на селективность эндогенных каналов TRPC1. В то же время оверэкспрессия кальциевого сенсора STIM2 восстанавливала чувствительность к уровню кальция в депо эндогенных каналов TRPC1 даже при полном отсутствии внеклеточного кальция.

Наши данные позволяют предполагать, что вход кальция через каналы Orai необходим для встраивания эндогенных депо-управляемых каналов TRPC1 в плазматическую мембрану, где они могут быть активированы кальциевыми сенсорами STIM. Оверэкспрессия сенсора STIM2 повышает базальный вход кальция в цитоплазму, таким образом, увеличивая число встроившихся в мембрану эндогенных каналов TRPC1.

Исследование было поддержано грантом РФФИ № 19-315-90065 (А.В. Шалыгин, Д.О. Колесников) и грантом РФФИ № 19-14-00114 (А.Ю. Скопин, Л.Н. Глушанкова, С.В. Созонова, Е.В. Казначеева).

**В.В. Косенчук., С.И. Якушев, И.В. Уласов**

### **ВИРУСНАЯ CMV70-3P МИКРОРНК ИНГИБИРУЕТ АУТОФАГИЮ В КЛЕТКАХ ГЛИОБЛАСТОМЫ**

*ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова  
Минздрава России (Сеченовский Университет),  
Москва, Россия*

**V.V. Kosenchuk, S.I. Yakushev, I.V. Ulasov**

### **VIRAL CMV70-3P MIRNA SUPPRESSES AUTOPHAGY IN GLIOBLASTOMA CELLS**

*Sechenov First Moscow State Medical University,  
Moscow, Russia*

ryk357@gmail.com

Медиана выживаемости пациентов с глиобластомой при лечении составляет 14–15 месяцев. В 60–90% образцов в опухолевых клетках персистирует цитомегаловирус (ЦМВ). Было показано, что валганцикловир увеличивает выживаемость пациентов до 24 месяцев. **Гипотеза:** ЦМВ подавляет синтез аутофагосом путем РНК-интерференции и ингибирования ферментов, что снижает активность внутриклеточного противовирусного ответа.

**Цель работы** — изучить предполагаемые механизмы ингибирования аутофагии в клетках глиобластомы через ЦМВ-индуцируемую вирусную микроРНК.

**Материалы и методы.** Иммунофлуоресценцией в биоптатах глиобластомы обнаруживали фосфорилированную S6 киназу и IE1 и IE2 ЦМВ. Биоинформатический анализ микроРНК проводили по TCGA, потенциальных мишеней — по STRING. Применяли культуры фибробластов MRC5, астроцитов NHA, клеток глиобластомы U87, U118, U251, инфицированные ЦМВ в дозе 5 MOI или не инфицированные. Передачу микроРНК от клеток с ЦМВ подтверждали добавлением профильтрованного через 0,4  $\mu\text{M}$  и 0,22  $\mu\text{M}$  супернатанта к клеткам, трансфицированным LC3-GFP или РНК26. МикроРНК обнаруживали с помощью qRT-PCR, маркеры аутофагии и экзосом — вестерн-блота.

**Результаты.** В биоптатах не наблюдали колокализацию аутофагии и экспрессии антигенов ЦМВ. Из 505 образцов TCGA более распространена оказалась UL70-3P. Максимальное подавление аутофагии (накопление LC3-1, анти-аутофагической изоформы) в опытах по передаче вирусной микроРНК наблюдали на 48 ч, что коррелировало с уровнем UL70-3P. Ингибирование RAB27B (задействован в биогенезе экзосом) снижало уровень

про-аутофагической LC3-II изоформы после передачи микроРНК интактным клеткам. После нокдауна RAB27B гена интенсивность флуоресценции РНК26<sup>+</sup>-клеток оказалась ниже, чем в контроле. На 48 ч при сравнении инфицированных MRC5 (пермиссивная инфекция) и U87 (непермиссивная) количество UL70-3P выросло в 12 раз в U87, в MRC5 оставалось неизменным — это подтверждает связь UL70-3P с непермиссивной инфекцией. Комбинация противовирусных препаратов (Валганцикловир, Цидофовир) и OLIGO ингибитора UL70-3P приводит к снижению выживаемости клеток (U251 — на 36–57%, U118 — на 7–11%) и уровня UL70-3P.

**Выводы.** Работа показывает, что в глиобластоме ЦМВ способен подавлять аутофагию через передачу неопухолевым клеткам UL70-3P, предположительно, в составе экзосом (исследование продолжается), что может увеличивать миграционную и инвазивную активность опухолей и ингибировать противовирусный ответ клетки.

**А.С. Костина<sup>1</sup>, А.М. Киселёв<sup>2</sup>, Д.С. Семёнова<sup>1,2</sup>,  
О.Б. Иртыга<sup>2</sup>, А.А. Костарева<sup>2</sup>, А.Б. Малашичева<sup>1,2</sup>**

### **NOTCH-ЗАВИСИМАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ОСТЕОГЕННОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНЫХ КЛЕТОК АОРТАЛЬНОГО КЛАПАНА**

*<sup>1</sup> ФГБУ «Институт цитологии Российской академии наук», Санкт-Петербург, Россия*

*<sup>2</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Россия*

**A. Kostina<sup>1</sup>, A. Kiselev<sup>2</sup>, D. Semenova<sup>1,2</sup>,  
O. Irtyuga<sup>2</sup>, A. Kostareva<sup>2</sup>, A. Malashicheva<sup>1,2</sup>**

### **NOTCH-DEPENDENT REGULATION OF OSTEOGENIC DIFFERENTIATION OF AORTIC VALVE INTERSTITIAL CELLS**

*<sup>1</sup> Institute of Cytology RAS, Saint-Petersburg, Russia*

*<sup>2</sup> Almazov National Medical Research Centre, Saint-Petersburg, Russia*

aleksandrakostina1991@gmail.com

**Введение.** Остеогенная дифференцировка представляет собой сложный многоступенчатый процесс, регулируемый широким спектром факторов на разных уровнях. Сигнальный путь Notch, обеспечивающий межклеточные взаимодействия находящихся рядом клеток, является одним из ключевых молекулярных каскадов, контролирующим остеогенные процессы как в эмбриогенезе, так и во взрослом организме. Нарушение функционирования сигнального пути Notch приводит к патологиям развития аортального клапана, предрасполагающим его к кальцификации. В основе процесса кальцификации створок аортального клапана лежит патологическая остеогенная дифференцировка интерстициальных клеток, конкретные механизмы которой остаются неясными.

**Цель.** Целью данного исследования является расшифровка Notch-зависимых остеогенных процессов, лежащих в основе патологической остеогенной дифференцировки интерстициальных клеток аортального клапана.

**Материалы и методы.** Первичные эндотелиальные и интерстициальные клетки были изолированы из створок аортального клапана здоровых доноров. Остеогенная дифференцировка была индуцирована добавлением среды, содержащей дексаметазон,  $\beta$ -глицерофосфат и аскорбиновую кислоту. Экспрессия интересующих генов