

Дифференциальное токсическое действие рибонуклеазы *B. intermedius* на клетки, экспрессирующие *kit*-онкоген¹

Зеленихин Павел Валерьевич

ассистент кафедры микробиологии, к.б.н.

Казанский государственный университет им. В.И. Ульянова-Ленина

E-mail: pasha_mic@mail.ru

Поиск молекулярных клеточных мишеней, за счет которых реализуется механизм цитотоксической активности РНКаз вызывает значительный научный интерес. Ранее было показано, что цитотоксичные рибонуклеазы микроорганизмов (катионные мутанты РНКазы *Streptomyces aureofaciens*, РНКазы *Bacillus intermedius* (биназа)) способны избирательно ингибировать в культурах рост клеток, экспрессирующих *ras*-онкоген [1]. В связи с этим представляется перспективным охарактеризовать действие цитотоксичных бактериальных РНКаз на клетки, экспрессирующие другие онкогены, например *kit*-онкоген, принимающий участие в процессах малигнизации клеток, в том числе при развитии злокачественных опухолей желудочно-кишечного тракта, мастоцитозов, острого миелогенного лейкоза и различного рода эмбриональных опухолей [2].

Цитометрическое исследование действия биназы проводили на культурах клеток-предшественников форменных элементов крови, нормальных (FDC-P1) и трансформированных *kit*-онкогеном (FDC-P1 1171), после инкубации клеток с РНКазой в течение 48ч.

Установлено, что биназа проявляла концентрационнозависимое цитотоксическое действие по отношению к клеткам FDC-P1 1171 и ингибировала их пролиферацию в диапазоне доз 100-500 мкг/мл. Внесение в среду культивирования биназы (500 мкг/мл) не приводило к снижению общего количества клеток для линии FDC-P1, в то же время снижая общее количество клеток (на 35%) для линии искусственно экспрессирующих онкоген клеток FDC-P1 1171. Цитометрическая оценка физиологических изменений клеток под действием биназы позволила выявить незначительное снижение общего количества РНК в клетках FDC-P1 1171, но не в FDC-P1. Внесение РНКазы в среду культивирования приводит к достоверному снижению количества внутриклеточного Ca^{2+} в клетках обоих типов. Концентрация внутриклеточного Ca^{2+} под действием биназы (500 мкг/мл) падала на 49% и 76%, для клеток FDC-P1 и FDC-P1 1171, соответственно.

Таким образом, проведенное исследование свидетельствует о наличии у фермента определенного избирательного действия по отношению к клеткам экспрессирующим *kit*-онкоген. Полученные данные подчеркивают необходимость выяснения роли специфических детерминант клеток-мишеней, таких, как различные онкогены, в реализации избирательной цитотоксичности РНКаз.

Литература

1. Ilinskaya O.N., Decker K., Koschinski A., Dreyer F., Repp H. (2001) *Bacillus intermedius* ribonuclease as inhibitor of cell proliferation and membrane current // Toxicology, V.156, p.101-107.
2. Lennartson J., Jelacic T., Linnekin D., Shivakrupa R. (2005) Normal and oncogenic forms of the receptor tyrosine kinase Kit // Stem Cells, V.23, p.16-43.

¹ Работа поддержана ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технического комплекса России на 2007-2012 годы» ГК 02.512.11.2050 и РНП.2.1.1.3222.