

Секция «Фундаментальная медицина»

Исследование экспрессии генов в клетках опухолевой линии, полученной от больной раком тела матки

Антонова Наталья Олеговна

Студент

Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского,

Биологический факультет, Нижний Новгород, Россия

E-mail: alia47@yandex.ru

Актуальным направлением исследований современной биомедицины является изучение возможности применения молекулярно-биологических подходов для ранней диагностики онкологических заболеваний. Известно, что для злокачественно трансформированных клеток характерно появление уникальных опухоле-специфических, а также опухоле-ассоциированных антигенов, которые могут являться результатом мутаций, реактивации эмбриональных генов, сверхэкспрессии этих генов. Гены, кодирующие эти белки, носят название раково-тестикулярных. Обнаружение их транскриптов в крови, сопровождающееся также повышением экспрессии некоторых генов, вовлеченных в иммунный ответ, может быть использовано для ранней диагностики онкозаболеваний.

Целью работы было исследование уровня экспрессии некоторых раково-тестикулярных генов (MAGE A(1-6), GAGE, XAGE, SSX), а также генов, вовлеченных в иммунный ответ (CD25, CD38, CD95, CD122) при выведении клеток из эксплантата опухолевого очага в чистую культуру.

В работе использовались клетки опухолевого очага, полученные от больной раком тела матки, проходившей лечение в Нижегородской областной клинической больнице им. Н.А. Семашко. Образец опухоли отмывали, подвергали механической и химической дезагрегации, центрифугировали. Клетки высеивали на среду DMEM с 20 антибиотиками: амфотерицин В, "стрептомицин-пенициллин гентамицин.

Образцы для ПЦР-анализа отбирали в момент посева первичной культуры, через день после него, а также при пересевах на 5, 8 и 12 день. Анализ экспрессии проводили с помощью РТ-ПЦР в соответствии с методами, разработанными ранее [1].

ПЦР-анализ показал наличие во всех образцах человеческой хромосомной ДНК. Было выявлено присутствие в образце, взятом при посадке культуры, полноразмерной ДНК раково-тестикулярных генов семейства MAGE A (1-6) и GAGE. Экспрессия генов XAGE и SSX в клетках опухолевого очага не выявлена.

В образцах, взятых через день после посева клеток, обнаруживалась полноразмерная ДНК генов MAGE A (1-6) и не обнаруживается экспрессия генов GAGE и XAGE. В образце, взятом на анализ на 5 день после выведения клеток в культуру, обнаружена экспрессия только генов MAGE A (1-6).

Проведен анализ экспрессии генов белков, вовлеченных в иммунный ответ (CD25, CD38, CD95, CD122). Экспрессия каждого из них обнаруживалась в клетках, взятых при посадке, но уже через день экспрессии CD25 и CD95 не обнаруживается. В образцах, взятых на 5 день культивирования обнаружена экспрессия CD38 и CD122. В образцах, взятых на 8 и 12 дни культивирования экспрессии ни одного из анализируемых генов не обнаружено.

Наличие экспрессии этих генов в образцах, взятых из опухолевого очага при посадке клеток, вероятно, обусловлено тем, что опухолевый очаг неоднороден и содержит клетки иммунной системы. Очевидно, что исчезновение экспрессии некоторых генов через день после посадки клеток и на 5 день культивирования связано с гибелью этих клеток.

В результате проведенных исследований сделан вывод о том, что при раке тела матки раково-тестикулярный ген GAGE, а также некоторые гены белков, вовлеченных в иммунный ответ (CD25, CD95, CD38), мРНК которых часто обнаруживается в крови и опухолевых очагах больных, в самих опухолевых клетках не экспрессируют.

Литература

1. Новиков В.В., Алясова А.В., Уткин О.В., Лютина Е.В., Новиков Д.В., Варшавская Л.В. Растворимые антигены CD38 и CD95 при раке молочной железы//Российский биотерапевтический журнал. 2005.Т 4. 3. С.46-51