

этой стимуляции может включать индукцию ОхуR-контролируемой малой регуляторной РНК ОхуS, которая снижает экспрессию генов *flhDC*, ингибируя продукцию флагелл и подвижность бактерий. Более того, Ag43, большой протеин наружной мембраны, необходимый для формирования биопленок, также регулируется ОхуR.

При изменении температуры культивирования в диапазоне от 20°C до 46°C в штамме дикого типа наблюдали два максимума БПО при 24°C и 44°C. Большинство мутантов по тиоловым редокс-системам утрачивали эти максимумы; кривая зависимости удельного биопленкообразования от температуры для двойного мутанта *gshAtrxA* была полностью противоположна аналогичному графику для бактерий родительского штамма. Это свидетельствует о важной роли внутриклеточных редокс-систем в контроле биопленкообразования при разных температурах. Исследования поддержаны грантами программы МКБ и РФФИ № 13-04-00706, 13-04-96039, № 14-04-96031.

БИНАЗА А НЕ СНИЖАЕТ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ МАКРОФАГОВ

**Макеева А.В.¹, Несмелов А.А.¹, Эктор Аленандро Кабрера Фуентес^{1,2},
Ильинская О.Н.¹**

¹ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия;

²Гиссенский университет им. Юстуса Либиха, Германия

annam.ksu@gmail.com

Инфильтрация макрофагов в ткани является значимым событием в развитие множества типов опухолей. Активация макрофагов ведет к появлению популяций клеток с различными функциями, в том числе с противоопухолевыми. Цитотоксические рибонуклеазы, к которым относится биназа (РНКаза *Bacillus pumilus*), обладают весомым потенциалом для использования в качестве средств терапии злокачественных новообразований. Однако без анализа влияния препарата на клетки макрофагов его практическое использование затруднено. Целью нашего исследования явилась оценка влияния биназы на жизнеспособность макрофагов. Макрофаги RAW264.7 и предварительно дифференцированные с помощью форбол-12-миристат-13-ацетата макрофаги THP-1 культивировали в атмосфере с 5% CO₂ в среде RPMI-1640 и DMEM (Sigma, США), соответственно, с добавлением 100 ед/мл пенициллина/стрептомицина, 10% сыворотки для THP-1, 10% инактивированной сыворотки для RAW264.7. Внесение биназы в концентрации 10 мкг/мл осуществляли после формирования монослоя 60% конфлюэнтности. Клетки культивировали в присутствии фермента в течение 3, 6 и 18 часов. Жизнеспособность клеток в культурах оценивали в ХТТ-тесте (PromoKine, Германия), а также в тесте на выход внеклеточных лактадегидрогеназ (Roche, Германия). Жизнеспособности выражали в (%) по отношению к активности ферментов в культуральной жидкости и в клетках, выращенных в течение такого же времени без обработки. Поглощение измеряли при 490 нм с референтной длиной волны 630 нм на мультиплашечном ридере ELX-800 (США). В качестве позитивного контроля использовали вариант с добавлением 1 мкМ стауроспорина. За 100% цитотоксичности принят вариант, где выход лактадегидрогеназы из клеток индуцирован Тритоном X-100. Установлено, что биназа не обладает цитотоксическим действием в отношении клеток макрофагов RAW264.7 и THP-1. Доля клеток нежизнеспособных клеток через 18 ч культивирования в присутствии биназы в концентрации 10 мкг/мл не превысила 16%, в то время как данный показатель в контрольном варианте со стауроспорином составил 96% для клеток RAW264.7 и 85% для клеток THP-1. Биназа не вызывала статистически достоверного повышения доли нежизнеспособных макрофагов после 3 и 6 часов культивирования. Вместе с тем, биназа не приводила к высвобождению из клеток лактадегидрогеназ. Полученные данные позволяют предположить, что отсутствие цитотоксического по отношению к макрофагам действия биназы не будет препятствовать их активации, индукции провоспалительного ответа и противоопухолевому действию.