

экспрессия мРНК генов – основных участников UPR – BiP, DDIT3 и XBP1 с использованием ПЦР «в реальном времени».

В результате проведенного высокопроизводительного секвенирования и биоинформатического анализа нами были получены следующие результаты:

– обнаружено 50 дифференциально экспрессирующихся микроРНК, из которых экспрессия 20 была повышена, а 30 понижена в опытных образцах по сравнению с контрольными;

– обнаруженные микроРНК модулируют следующие сигнальные пути и внутриклеточные процессы: деградация РНК, процессинг экзонированных интрон-содержащих пре-мРНК, сплайсинг, убиквитин-зависимый протеолиз, мембранный трафик, опосредуемые кальцием сигнальные пути, метаболизм аскорбата и альдарата, сигнальный путь mTOR, сигнальные каскады с участием фосфатидилинозитола, сигнальный путь Notch;

– 5'-цепь микроРНК miR-616 (hsa-miR-616-5p), которая содержится в первом интроне гена DDIT3, индуцируется при стрессе ЭПР в клетках Jurkat и коэкспрессируется с геном DDIT3. Анализ *in silico* выявил синергизм между функциями hsa-miR-616-5p и DDIT3, что может указывать на корегуляцию экспрессии hsa-miR-616-5p и DDIT3.

АКТИВНОСТЬ ПРОМОТОРА ГЕНА SNAI1 В ОПУХОЛЕВЫХ И НОРМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

Кондратьева Л.Г.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

liakondratyeva@yandex.ru

Опухоль представляет собой комплекс различных клеток, где помимо трансформированных раковых, присутствует значительное количество нормальных клеток организма, формирующих опухолевую строму. Доля клеток стромального микроокружения некоторых типов опухолей может достигать 90% их общего объема. Поэтому строма является потенциально не менее важной мишенью противоопухолевой терапии, чем непосредственно раковые клетки. Одно из преимуществ лечения, ориентированного на строму заключается в большей генетической стабильности клеток микроокружения по сравнению с трансформированными клетками, которые могут накапливать адаптивные мутации и быстро приобретают устойчивость к лекарственным препаратам.

Существует подход к уничтожению опухолевых клеток, называемый терапией генами суицидального воздействия. Он основан на доставке в опухолевые клетки “генов-убийц”, кодирующих фермент, модифицирующий вводимый низкотоксичный агент в высокотоксичное производное. Реализация такого подхода в стромальных клетках обеспечит образование в них диффундирующих токсинов для подавления роста соседних злокачественных клеток. Это может быть достигнуто посредством конструирования векторов, несущих терапевтические гены под контролем промоторов генов, активно участвующих в процессах формирования и жизнедеятельности стромы. Например, может быть использован промотор гена *SNAI1*, кодирующего транскрипционный фактор SNAIL, который осуществляет негативную регуляцию экспрессии генов посредством связывания с E-боксами в составе промоторов этих генов, а также является индуктором эпителиально-мезенхимального перехода.

Промоторная область гена *SNAI1* была клонирована в репортерные конструкции, содержащие ген люциферазы под контролем изучаемого промотора, и для исследования его активности и специфичности проведены транзиторные трансфекции клеточных линий рака поджелудочной железы PANC-1 и MiaPaCa-2, фибробластов поджелудочной железы IVP-9TS и эндотелия кровеносных сосудов HUVEC. Промотор гена *SNAI1* показал более высокую относительную активность по сравнению с исследованными ранее вариантами стромального промотора гена *SPARC* во всех изученных клеточных линиях. Удаление E-бокса из конструкции, несущей промотор SNAIL, привело к увеличению активности люциферазы в исследованных клеточных линиях. Кроме того, промотор гена *SNAI1* обладал более высокими активностями в раковых клеточных линиях по сравнению с известным раковоспецифичным с широким спектром активности промотором гена сурвивина человека (phSurv). Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-50-00131).