

## Характеристика влияния биназы на жизнеспособность и способность к инвазии клеток меланомы B16

Научный руководитель – Зеленихин Павел Валерьевич

*Рудич Мария Павловна*

*Студент (бакалавр)*

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра микробиологии, Казань, Россия

*E-mail: Mariya.Rudich@mail.ru*

Рибонуклеазы обладают широким спектром биологических эффектов, в частности для ряда из них описано цитотоксическая активность в отношении малигнизированных клеток. К таким ферментам относится гуанилспецифичная РНКаза *Bacillus pumilus*, которая способна вызывать апоптоз клеток рака легкого, молочной железы, кишечника. Биназа способна к прямому взаимодействию с онкогенным белком RAS, ингибируя его активность. Предполагается использовать этот белок в щадящей химической терапии онкологических заболеваний разных типов. В связи с этим, целью данного исследования стала оценка изменений жизнеспособности клеток меланомы B16, а также их способности к миграции, под действием биназы.

В работе использовали клетки меланомы мыши B16. Клетки культивировали в среде RPMI, содержащей 10% эмбриональной сыворотки телят (HyClone, Австралия), 2 мМ глутамина, 100 ед./мл пенициллина, стрептомицина и канамицина, при 37 С во влажной атмосфере с 5% CO<sub>2</sub>. Клетки в концентрации  $1,5 \cdot 10^4$  кл/мл засеивали в 96-луночный планшет, и инкубировали в присутствии биназы (10 - 600 мкг/мл) 24 часа. Изменения жизнеспособности клеток под действием РНКазы фиксировали в МТТ-тесте. Оценку изменений способности клеток B16 к миграции оценивали с помощью «Scratch-wound migration assay», процарапывая стерильным наконечником монослой (90% конфлюэнтность) клеток и наблюдая за его восстановлением в присутствии (100-500 мкг/мл) либо отсутствии РНКазы в течение 24 ч.

При помощи МТТ-теста установлено, что биназа снижала выживаемость клеток B16 во всем диапазоне исследованных концентраций. Значение показателя жизнеспособности составило  $61,37 \pm 2,7\%$ ,  $67,24 \pm 8,1\%$ ,  $39,91 \pm 5,9\%$ ,  $38,79 \pm 3,6\%$ ,  $33,70 \pm 6,4\%$ ,  $38,87 \pm 6,4\%$ ,  $35,34 \pm 9\%$ ,  $37,41 \pm 2,9\%$ ,  $30,51 \pm 5,4\%$ ,  $29,65 \pm 4,5\%$  для концентраций биназы 10, 25, 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 600 мкг/мл, соответственно. В миграционном тесте не установлено достоверных различий между образцами с добавлением фермента и без него при сроке наблюдения 24 часа, что не исключает возможности проявления эффектов при более длительных сроках наблюдения. Полученные результаты свидетельствуют о перспективах использования РНКазы *Bacillus pumilus* как средства для терапии меланом и подчеркивают актуальность дальнейших исследований.