

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
Институт биоорганической химии
им. академиков
М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Общество биотехнологов России
им. Ю.А. Овчинникова



Международная научная конференция по биоорганической химии, биотехнологии и бионанотехнологии, посвященная 75-летию со дня рождения академика Юрия Анатольевича Овчинникова

28 сентября – 2 сктября 2009 г.

Сборник тезисов

Том 1. Устные доклады и стендовые сообщения

Москва – Пущино

RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES
Shemyakin & Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry
Ovchinnikov Russian Biotechnology Society

International Conference on Biomolecular Science in honor of the 75th anniversary of the birth of Professor Yuri Ovchinnikov

September 28 – October 2, 2009

Abstracts

Volume 1. Oral and poster presentations

Moscow – Pushchino

Конференция проводится при поддержке:

Российской академии наук

Федерального агентства по науке и инновациям
Министерства образования и науки Российской Федерации

Российского фонда фундаментальных исследований

Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова

ООО "Брукер"

ООО "ИнтерЛабСервис"

НПФ "Литех"

ЗАО "Пептек"

ООО "Пептос Фарма"

ЗАО "Фармсинтез" (Санкт-Петербург)

Редакторы сборника
к.х.н. Т.В. Овчинникова и Т.И. Соркина

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

ABSTRACTS OF ORAL PRESENTATIONS

SOLUBLE Fas IN ONCOLOGY DISEASES

Abbasova S.G., Lipkin V.M., Kushlinskii N.E.***

Branch of Shemyakin & Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Pushchino, Russia

*Shemyakin & Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow, Russia

**Cancer Research Center RAMS, Moscow, Russia

E-mail: svetlanaabbasova@rambler.ru

Apoptosis is the mechanism of paramount importance to the disposal of cells dangerous to the body, such as virus infected or cancerous cells. In the anti-tumor defense of a human organism, one aspect of the lack of apoptotic elimination stems from the development of resistance to the effects of the Fas-dependent system of apoptosis, which is both a fundamental scientific and practical medical problem. The resistance of malignant cells to the cytotoxic effect of Fas-ligand, among other reasons, can be mediated by the increased production of soluble Fas (sFas) by these cells. Soluble Fas is capable of distantly inhibiting the Fas-ligand action thus providing advantageous survival and proliferation to the sFas-producing cells.

In the present research, the first Russian ELISA test system for assaying sFas in human blood serum was characterized. The analysis of experimental sFas-concentration data obtained using the system in over 1,000 patients with breast, bone, uterine, colon, adrenal gland, thyroid gland, and ovarian cancer was performed. The correlation was explored between sFas and other factors involved in the pathogenesis of oncology diseases – the estrogen receptors in the mammary gland tumor tissue, the urokinase-type plasminogen activator (uPA), the inducer of tumor neoangiogenesis (VEGF), the proinflammatory cytokine with a broad spectrum of biological activity (IL-6), and the total activity of the alkaline phosphatase in bone sarcoma. It was demonstrated that soluble Fas is involved in the pathogenesis of cancer diseases: The 'high' sFas level in the blood serum was linked with: a late stages of ovary, uterine, colon, and adrenal cortex cancer; with a low-grade tumor differentiation in uterine and ovarian cancer; with the depth of invasion of the tumor into myometrium in uterine cancer and into the walls of colon and adjacent tissues in colon cancer; and with distant metastases in colorectal and adrenal cortex cancer. The 'high' sFas level was shown to reliably correlate with the deterioration of overall performance and relapse-free survival of patients with osteosarcoma, ovarian cancer, endometrial cancer, adrenocortical carcinoma; it was shown to be an adverse factor in assessing the effectiveness of neoadjuvant anti cancer radiation therapy for colorectal cancer patients.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕНОМЕНА УПРАВЛЯЮЩЕГО ДИСТАНЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА КЛЕТОЧНЫЕ КУЛЬТУРЫ

Авшалумов А.Ш.

Институт кибернетической медицины, Москва, Россия

E-mail: alexander.avshalumov@gmail.com

Данная работа посвящена экспериментальной проверке сформулированной автором гипотезы, в соответствии с которой предполагается, что при разрушении структуры биологических объектов формируется излучение, несущее информацию об их свойствах; это излучение при определенных условиях может воздействовать на другие биологические объекты, целенаправленно изменяя их свойства, т.е. играет роль управляющего дистанционного воздействия.

Для проверки этой гипотезы создана специальная компьютизированная установка. Она представляет собой двухкамерную систему, в одну из изолированных от внешней среды камер которой помещают биологическую субстанцию (объект-источник воздействия), а в другую – объект-приемник, биологическую субстанцию, свойства которой предполагается изменить с помощью дистанционного воздействия, возникающего в момент разрушения структуры объекта-источника – например, с помощью нагрева. Конструкция устройства исключает возможность переноса энергии от объекта-источника к объекту-приемнику.

Приведем характерные результаты, полученные при экспериментировании на клеточных культурах. Исследования проводились совместно с ведущими в области микробиологии научно-исследовательскими организациями (НИИ трансплантологии и искусственных органов, ОАО "Биохиммаш", ЗАО "Лейтран"). Эксперименты реализовывались по единой методике: стандартным способом формировались два образца клеточных культур – контрольный и экспериментальный. Условия, обеспечивающие их выращивание, хранение, транспортировку, были абсолютно идентичными. Различие заключалось только в том, что экспериментальный образец подвергался обработке в установке.

1. Эксперименты с β-клетками. В качестве объекта-приемника в данном случае использовалась культура β-клеток, продуцирующих инсулин. Дистанционное воздействие формировалось при разрушении структуры (сжигании) вещества-источника – субстанции, содержащей гепатоциты и панкреоциты. Измеряемые величины – количество вырабатываемого β-клетками инсулина до обработки в установке, через два часа после одно- или двукратной обработки и в контрольных образцах.

Установлено, что обработка оказывает явное стимулирующее влияние на культуру β-клеток, увеличивая количество вырабатываемого ими инсулина по сравнению с исходными значениями и контрольными образцами в среднем примерно на 30% при однократном воздействии и на 44% – при двукратном.

2. Эксперимент с клетками Лейдига. Использована клеточная культура Лейдига новорожденных поросят. Экспериментальный образец

подвергался пятикратному воздействию на установке; дистанционное воздействие формировалось при разрушении тестикул.

Получены следующие результаты: по сравнению с контролем коэффициент пролиферативной активности клеток в обработанном образце оказался выше на 54%, а продуцирование тестостерона больше на 19%.

3. Эксперимент со стволовыми клетками человека. В эксперименте использованы мезенхимальные стволовые клетки человека постнатального происхождения. Через 30 суток после начала культивирования экспериментальная часть подвергалась дистанционному воздействию, формируемому в установке в момент гибели под действием разрушающего фактора кардиомиоцитов объекта-источника.

Зафиксировано значительное увеличение основных характеристик жизнедеятельности клеток в экспериментальном образце по отношению к контрольному: индекса пролиферации – в среднем, на 21%, доли кардиомиоцитов в общем числе клеток – на 82%.

Отметим, что в качестве источника, продуцирующего дистанционное воздействие при своей деструктуризации, везде использовались именно те биосубстанции, которые непосредственно связаны со свойствами воспринимающей воздействие культуры клеток и теоретически могут носить стимулирующий характер в нужном для пользователя направлении (гепатоциты и панкреоциты для β-клеток, тестикулы – для клеток Лейдига, кардиомиоциты – для стволовых клеток человека). Характерно, что при экспериментировании со стволовыми клетками в результате целенаправленного воздействия при деструктуризации кардиоомиоцитов увеличилось процентное содержание именно кардиомиоцитов, а не каких-либо иных клеток, присутствовавших в исходной культуре в примерно равной пропорции.

Последующее широкое подтверждение обнаруженного феномена управляющего дистанционного воздействия и выявление его физического носителя могут открыть новое перспективное направление в молекулярной биологии, представляющее существенный научный и практический интерес.

EXPERIMENTAL STUDY OF REMOTE CONTROL EFFECT ON CELL CULTURES

Avshalumov A.S.

Institute of Cybernetic Medicine, Moscow, Russia

E-mail: alexander.avshalumov@gmail.com

This work describes experimental validation of author's hypothesis, which assumes that during breakdown of biological objects structure radiation is generated carrying information about their properties; under certain conditions this radiation can affect other biological objects, directionally changing their properties, i.e., it plays the role of remote control effect.

To check this hypothesis, a special computerized unit was created. It represents a double-chamber system; one chamber isolated from an environment houses a biological substance (a source-object), the other houses the receiver-object, which is a biological substance whose properties should be changed with the remote effect arising at a moment of breakdown of the source object structure, e.g., by heating. The unit design precludes the energy transfer from source-object to receiver-object.

The studies were performed together with the research organizations leading in microbiology (Research Institute for Transplantology and Bioartificial Organs, JSC "Biohimmash", Closed-JSC "Leytran"). The experiments were implemented according to the same technique: two samples of cell cultures (control and experimental) were formed the same way. The conditions ensuring their growth, storage and transportation were identical. The only difference was that the experimental sample was subjected to processing in the unit.

1. Beta-cell experiments. Here insulin producing culture of β-cells was used as receiver object. The remote effect was formed during breakdown (combustion) of source object structure – a substance containing hepatocytes and pancreocytes. The measured values are amount of insulin generated by β-cells before processing in the unit, two hours after single- or double- processing and in controlled samples.

The processing has obvious stimulating effect on the β-cell culture increasing the amount of insulin generated by cells compared to initial values and controlled samples on the average of approximately by 30% at single effect and by 44% – at double effect.

2. Experiment with Leydig cells. Leydig cell culture of newborn pigs was used. The experimental sample was subjected to the fivefold effect in the unit; the remote effect formed at breakdown of testicles.

The following results were obtained: compared to the control one, the cell proliferation index in the processed sample turned out to be higher by 54%, and testosterone production was higher by 19%.

3. Experiment with human stem cells. Here, human mesenchymal stem cells of postnatal period were used 30 days after culturing started the experimental part was subject to the remote effect formed in the unit at a moment of source object cardiomyocytes destruction caused by the breakdown factor.

Significant increase of main characteristics of cell vital activity in the experimental sample compared to the control one was recorded: proliferation index – on the average by 21%, cardiomyocyte percent of total cell value – by 82%.

As a source producing the remote effect during its destruction, those biosubstances were used which were directly related to properties of the cell culture under effect and, theoretically, they can have a stimulating nature in direction needed for user (hepatocytes and pancreocytes for β-cells, testicles – for Leydig cells, cardiomyocytes – for human mesenchymal stem cells). Characteristically, when experimenting with the stem cells, the directional effect on the cardiomyocyte destruction resulted in significant increase of percentage of just cardiomyocytes, and not other cells, presented in the initial culture in approximately equal proportion.

Subsequent broad confirmation of the discovered phenomenon of the remote control effect and revealing its physical carrier can open a new perspective direction in the molecular biology representing essential scientific and practical interest.

КОНСТРУИРОВАНИЕ КОМПЛЕКСОВ ЛИПИД-ДНК НА ОСНОВЕ КАТИОННОГО ПРОИЗВОДНОГО ХОЛЕСТЕРИНА

Алексеева А.С., Маслов М.А., Болдырев И.А.*

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

*Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: anna@lipids.ibch.ru

Комплексы липидов с ДНК могут быть использованы как инструмент генной терапии. В настоящее время развитие этого направления ограничено эффективностью имеющихся средств направленной доставки ДНК в клетки-мишени. Метод липофекции, основанный на использовании катионных липидов для создания системы доставки ДНК, имеет ряд преимуществ: молекулы ДНК, защищенные липидной оболочкой, не разрушаются в кровотоке, не инфекционны и не иммуногенны.

Конструирование комплексов, состоящих из ДНК, окруженных слоем катионных липидов и липидами, выполняющими функции защиты комплексов от иммунокомпетентных клеток за счет образования стерически-стабилизированной поверхности, является наиболее перспективным. Однако, существенное влияние на эффективность липофекции оказывают структура используемых липидов, состав липидной смеси и способ приготовления комплексов. Кроме того, комплексы могут иметь различную структуру. В литературе имеются сведения о комплексах в виде ДНК, связанной с поверхностью катионных липосом, либо заключенной во внутренний водный объем обращенной гексагональной фазы, либо связанной между слоями ламмелярной фазы и др. Такая неоднозначность структуры не дает возможности ни оптимизировать технологию получения комплексов, ни повлиять на их устойчивость и эффективность доставки ДНК.

На основе синтезированного нами ранее катионного производного холестерина – N-[4-холест-5-ен-3β-илоксикарбонил)бутил] пиридиний бромида в сочетании со вспомогательными липидами нами была отработана технология приготовления комплексов липидов с ДНК, характеризующихся узким и регулируемым распределением по размерам. Размеры и структура комплексов исследованы с помощью лазерного динамического светорассеяния и электронной микроскопии. Слияние комплексов с липосомами изучено с помощью индуктивно-резонансного переноса энергии.

Работа поддержана РФФИ, грант № 09-03-00874-а.