

## **АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ БИОТЕХНОЛОГИИ (В ТОМ ЧИСЛЕ НАНОБИОТЕХНОЛОГИИ) И ИММУНОЛОГИИ**

УДК 619:579

### **АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ФОСФОЛИПАЗЫ C $\epsilon$ НА УРОВНЕ мРНК В ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ**

Матвейчук О.В.\*, 5 курс, фак-т биотехнологии и экологического контроля,  
Научный руководитель: д.б.н., проф. Карпов А.В.\*, аспирантка Тютюнникова  
А.П.\*\*, к.б.н., с.н.с. Телегеев Г.Д.\*\*

\*Национальный университет пищевых технологий,

\*\*Институт молекулярной биологии и генетики НАНУ

Онкогематологические заболевания представляют собой весьма разнородную группу нозологических форм, имеющих различное происхождение, частоту встречаемости, течение и прогноз. В основе каждого из этих заболеваний лежит генетически измененная клетка-предшественница, по каким-то причинам избежавшая контроля собственной иммунной системы. Лейкемия - злокачественное клональное (неопластическое) заболевание кроветворной системы. Лейкозы характеризуются угнетением нормального кроветворения, замещением нормального костномозгового кроветворения пролиферацией незрелых, менее дифференцированных и функционально активных клеток (при острых лейкозах) или резким увеличением количества зрелых лимфоидных клеток в крови, лимфатических узлах, селезенке, печени (при хронических) [1]. Статистика говорит о том, что за последние 100 лет по уровню заболеваемости и смертности в мире онкопатология переместилась с десятого места на второе, уступая лишь болезням сердечно-сосудистой системы. По данным ВОЗ, каждый год вновь заболевают 10 млн человек. В среднем в мире регистрируется 2,5-3,5 заболевания лейкозами на 100 тысяч населения [2].

В настоящее время отсутствует универсальный метод лечения лейкозов.

На протяжении последнего десятилетия активно проводятся исследования экспрессии различных онкобелков в клетках и тканях человеческого организма [3].

Цель научной работы - выявление экспрессии мРНК транскриптов фосфолипазы С эпсилон (PLC $\epsilon$ ) в лейкоцитах больных различными видами лейкозов.

Материалом для исследования были лейкоциты, выделенные из крови больных с миелопролиферативными заболеваниями.

На первом этапе работы сделали выделение тотальной РНК из исследовательского материала. С помощью электрофореза в агарозном геле проверили чистоту и отсутствие примесей ДНК в полученном образце РНК. В готовые лунки агарозного электрофоретического геля внесли пробы РНК (1 часть красителя бромфенолового синего: 5 исследуемой РНК).

После окончания электрофореза, который длился 40 мин при силе тока 100мА, пластинку с распределенным образцом в отдельном сосуде залили бромистым этидием на 2 минуты и промыли водой. Качество полученной РНК проверили, поместив пластинку геля в трансиллюминатор под ультрафиолетовый свет (длина волны 312 нм). Полученный результат свидетельствует о качестве полученной РНК, достаточном для синтеза кДНК.

Концентрацию РНК измеряли с помощью спектрофотометра NanoDrop. Она равнялась 959,5 нг / мкл.

На втором этапе экспериментальной работы с помощью выделенной матричной РНК синтезировали кДНК. Для эксперимента использовали воду, очищенную от РНКаз. Реакцию проводили в присутствии ревертазы по регламентированным условиям.

Получение фрагмента ДНК, кодирующего синтез PLCε (636 пар нуклеотидов) провели с помощью ПЦР. Для этого последовательно добавили в пробирку для ПЦР необходимые компоненты для реакции и задали в амплификатор проверенную программу нагревания-охлаждения образцов. Полученный амплификат ДНК проверили на его соответствие размерам ожидаемого фрагмента с помощью электрофореза в агарозном геле. Проведенный электрофорез полученного амплификата позволил подтвердить наличие экспрессии PLCε в лимфоцитах крови 12 исследуемых больных миелопролиферативными заболеваниями (МПЗ).

Совершили поиск взаимосвязи между экспрессией белка PLCε в крови больных миелопролиферативными заболеваниями и наличием перестройки b3-a2 (p210 bcr-abl). На данный момент корреляции не обнаружено, но для окончательного вывода необходимы дальнейшие исследования (табл. 1).

Таблица 1-Взаимосвязь наличия мРНК транскриптов PLCε и белка p210 BCR-ABL

№ п/п	Источник выделения материала	Наличие экспрессии PLCε	Наличие экспрессии белка p210
1	Здоровый донор	+	-
2	Больной донор 1	+	+
3	Больной донор 2	+	+
4	Больной донор 3	+	+
5	Больной донор 4	+	-
6	Больной донор 5	+	-
7	Больной донор 6	+	+
8	Больной донор 7	+	-
9	Больной донор 8	+	+
10	Больной донор 9	+	-

Полученные результаты позволяют утверждать, что присутствие белка PLCε в крови больных миелопролиферативными заболеваниями свидетельствует о выполнении этим белком определенных функций в онкогенезе. Поскольку в наших предыдущих работах было показано взаимодействие PLCε с РН доменом Vcr-Abl (белка, играющего одну из ключевых ролей в развитии МПЗ), то следующим шагом станет определение функций такого комплекса в процессе опухолевой прогрессии при лейкозах.

Последующие исследования заключаются в выделении РНК из лейкоцитов периферической крови больных миелопролиферативными заболеваниями, а также определении экспрессии PLCε на уровне белка с помощью Вестерн-блот анализа.

#### **Библиографический список**

1. Моисеев С.И., Зарицкий А.Ю., Г.Н. Салогуб Хронические миелопролиферативные заболевания. Классификация, диагностика и лечение // Пособие для студентов IV, V, VI курсов, интернов, клинических ординаторов и врачей. – 2004. – 41 с.
2. Global action against cancer // World Health Organization (WHO) Press. – 2005. – P. – 24.
3. Esfahani K.M., Morris E.L., Dutcher J.P., Wiernik P.H. Blastic phase of chronic myelogenous leukemia // Current Treatment Options in Oncology. – 2006. – Vol.7, №3. – P. – 189– 199.

#### **ANALYSIS OF PHOSPHOLYPASE Cε EXPRESSION AT mRNA LEVEL IN PERIPHERAL BLOOD LEUKOCYTES OF PATIENTS WITH MYELOPROLIFERATIVE DISORDERS**

Matveychuk O.V., Tyutyunnykova A.P.

This experimental work is dedicated to detection of mRNA transcripts of phospholipase C epsilon (PLCε) in leukocytes of patients with various types of leukemia. First, the isolation and purification of total RNA from the leukocytes of patients with myeloproliferative disorders has been made. This RNA has been used for the cDNA synthesis. The PCR analysis has been performed in order to identify PLCε expression.

УДК 616.021

#### **ВЛИЯНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА ПОВЫШЕНИЕ УРОВНЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Уманская А. О., 5 курс, факультет БТЕК

Научный руководитель: к.т.н, доцент Антонюк М.М.

Национальный Университет Пищевых Технологий г. Киев

С годами постоянно растет количество заболеваний разного рода и происхождения. Третье место на данный момент принадлежит онкологическим заболеваниям. За последние 10 лет количество онкологических больных возросло на 25%, и, продолжает расти на 5% каждый год.