

является бессывороточной и рекомендуется именно для культивирования клеток гибридомы в продуктивной стадии. В дальнейшем мы планируем оценить эффективность продукции антител клетками гибридомы в зависимости от среды культивирования, что в совокупности с представленными результатами позволит оптимизировать процесс получения

целевого продукта, как с позиции технологии, так и с позиции экономической целесообразности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Раев М. Б. Способ выделения и очистки трофобластического β -1-гликопротеина. Патент РФ № 2367449, опубликован 20.09.2009, Бюл. № 26.

INVESTIGATION OF GROWTH AND VIABILITY OF HYBRIDOMA BAP3 CELLS IN DIFFERENT CULTURE MEDIA *IN VITRO*

Раев М. В.^{1,2}, Zamorina S. A.^{1,2}, Timganova V. P.¹,
Bochkova M. S.¹, Khrantsov P. V.^{1,2}

¹Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS; ²Perm State National Research University, Perm, Russia

Growth and viability in different culture media after thawing of hybridoma BAP3 cells that produces monoclonal antibodies against pregnancy-specific b1-glycoprotein (PSG) were studied *in vitro*. We show that cultivation in [DMEM+12% FCS] leads to maximal cell growth (1,8-fold in two days) with retention of viability of more than 70%. There were 1,1-1,2-fold growth and viability of 55-59% in [DCCM-1]-based media and 1,6-fold growth in two days in [RPMI-1640+12% FCS]. Therefore, application of [DMEM+12% FCS] medium seems to be the most appropriate for cultivation of hybridoma BAP3 cells after their thawing from cryopreservation.

Key words: hybridoma BAP3, pregnancy-specific β 1-glycoprotein (PSG), cell culture, cell mass growth, cell viability

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОСПЕЦИФИЧЕСКОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ДНК-АПТАМЕРА И УГЛЕРОДНЫХ НАНОЧАСТИЦ

Раев М. Б.^{1,2}, Храмцов П. В.^{1,2}, Бочкова М. С.¹,
Тимганова В. П.¹, Заморина С. А.^{1,2}, Кропанева М. Д.²

¹ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов
Уральского отделения Российской Академии наук; ²ФГБОУ ВПО Пермский
государственный национальный исследовательский университет,
Пермь, Россия

Аптамерами называют ДНК- и РНК-олигонуклеотиды, обладающие способностью к избирательному взаимодействию с молекулой-мишенью. Цель настоящей работы состояла в исследовании процесса взаимодействия биотинилированного ДНК-аптамера, специфичного к IgE человека, и углеродных наночастиц, ковалентно конъюгированных со стрептавидином. Было продемонстрировано, что максимально высокий уровень специфической сорбции достигается при концентрации аптамера 100 нМ и составляет порядка 40 пкМ на 1 миллиграмм наночастиц.

Ключевые слова: аптамеры, иммуноглобулин E, углеродные наночастицы

Аптамерами называют ДНК- и РНК-олигонуклеотиды, обладающие способностью к избирательному взаимодействию с молекулами-мишенями. Аптамеры выделяют из библиотек случайных олигонуклеотидных последовательностей.

В определенном смысле аптамеры можно назвать искусственными аналогами антител, а точнее их Fab-фрагментов. В настоящее время аптамеры рассматриваются в качестве возможной альтернативы моноклональным антителам в целом ряде областей биотехнологии и биомедицины: *in vitro* диагностике, медицинской визуализации, адресной доставке лекарственных средств, биоспецифической очистке биологических молекул [1]. Стоит отметить, что целый спектр научных публикаций посвящен разработке биомедицинских технологий и методов, в которых центральную роль играют аптамеры, иммобилизованные на поверхности наноматериалов. В настоящей работе внимание уделено синтезу конъюгатов ДНК-аптамера и углеродных наночастиц, обладающих рядом преимуществ, которые делают их перспективным материалом для применения в области иммунодиагностики: относительно низкой стоимостью, доступностью, визуальной контрастностью, физико-химической стабильностью и т.д. [2].

Цель настоящей работы состоит в исследовании процесса взаимодействия биотинилированного ДНК-аптамера, специфичного к IgE человека, и углеродных наночастиц, ковалентно конъюгированных со стрептавидином.

В работе использовали ДНК-аптамер D 17.4: 5'-GGGGCACGTTTATCCGTCCCTCCTAGTGGCGTGCCCC-3' «Синтол» (Россия) специфичный к IgE человека [3] в двух вариантах:

1) меченный биотином по 5'-концу и флуоресцеином по 3'-концу;

2) меченный флуоресцеином по 3'-концу (контрольный аптамер).

В ходе экспериментов по иммобилизации аптамера на наночастицах использовали фосфатно-солевой буфер: 0,15М раствор NaCl, забуференный 0,015М Na-фосфатами + 3мМ KCl + 5мМ MgCl₂ + 0,1 % Tween 20 + 0,1 % NaN₃, рН 7,25. Гомогенность препарата аптамера подтверждали методом гель-электрофореза в полиакриламидном геле.

Синтез углеродных наночастиц, конъюгированных со стрептавидином осуществляли по описанной ранее методике. Средний раз-

мер частиц определяли методом измерения обратного динамического светорассеяния, он составил 174 нм (min 78 нм, max 400 нм) [4].

Взаимодействие биотинилированного аптамера с углеродными наночастицами количественно оценивали по снижению флуоресценции раствора аптамеров после инкубации с наночастицами. Аптамеры в концентрациях 400, 100, 25, 6 и 1,5 мкМ инкубировали с 10 мкг углеродных наночастиц в течение 60 мин при комнатной температуре, после чего наночастицы осаждали центрифугированием при 18000g в течение 15 мин. Падение флуоресценции регистрировали в растворах тестового и контрольного аптамера. Уровень неспецифической сорбции (обусловленной электростатическими, гидрофобными, ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями) рассчитывали, исходя из падения флуоресценции раствора контрольного аптамера. Специфическую сорбцию (обусловленную взаимодействием стрептавидина и биотина) количественно оценивали, как разницу между количеством сорбированного тестового и контрольного аптамера.

Было продемонстрировано, что максимально высокий уровень специфической сорбции достигается при концентрации аптамера 100 нМ и составляет порядка 40 пкМ на 1 миллиграмм наночастиц. Наблюдалось возрастание неспецифической сорбции небитинилированного аптамера на углеродных наночастицах при повышении его исходной концентрации. В настоящее время работа по изучению взаимодействия аптамера D 17.4 и углеродных наночастиц продолжается. Предполагается исследовать более широкий спектр концентраций углеродных наночастиц, а также подобрать способы снижения неспецифической сорбции аптамера. Не менее важной задачей представляется изучение стабильности получаемых конъюгатов в части сохранения ими структурно-функциональных свойств, аналогично проведенным ранее исследованиям в отношении белковых конъюгатов [5].

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Пермского края в рамках научного проекта 16-44-590427 p_a.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zhou J., Rossi J. Aptamers as targeted therapeutics: Current potential and challenges. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2017, 16 (Suppl.), 181-202.

2. Posthuma-Trumpie G., Wichers J., Koets M., Berendsen L, van Amerongen A. Amorphous carbon nanoparticles: a versatile label for rapid diagnostic (immuno)assays. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2012, 402 (suppl.), 593-600.
3. Wiegand T. W., Williams P. B., Dreskin S. C., Jouvin M. H., Kinet J. P., Tasset D. J. *Immunol.* High-affinity oligonucleotide ligands to human IgE inhibit binding to Fc epsilon receptor I. 1996, 157 (suppl.), 221-30.
4. Раев М. Б., Храмов П. В., Бочкова М. С. Исследование размеров углеродных наночастиц, ковалентно функционализированных белковыми макромолекулами. *Российские Нанотехнологии*. 2015, 1-2, 112-118.
5. В. П. Тимганова, М. С. Бочкова, М. Б. Раев. Стабильность структурно-функциональных свойств углеродных диагностикумов. *Доклады академии наук*. 2013, 450, 4, 492-495.

INVESTIGATION OF BIOSPECIFIC INTERACTION BETWEEN DNA-APTAMER AND CARBON NANOPARTICLES

**Rayev M. B.^{1,2}, Khramtsov P. V.^{1,2}, Bochkova M. S.¹, Timganova V. P.¹,
Zamorina S. A.^{1,2}, Kropaneva M. D.²**

*¹Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS; ²Perm State
National Research University, Perm, Russia*

Aptamers are DNA- and RNA-oligonucleotides that can selectively bind target molecules. Objective of our work was to investigate into interaction of biotinylated DNA-aptamer specific to human IgE with carbon nanoparticles covalently conjugated with streptavidin. Maximal level of specific interaction (about 40 pM per 1 mg of nanoparticles) was observed when concentration of aptamer was 100 nM.

Key words: aptamer, immunoglobulin E, carbon nanoparticles

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МОНОЦИТОВ У ДЕТЕЙ С ЭНМТ В ДИНАМИКЕ НЕОНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА

Ремизова И. И., Шамова К. П., Чистякова Г. Н.

*ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства
и младенчества» Минздрава России, Екатеринбург, Россия*

С целью оценки функциональной активности моноцитов у недоношенных детей различного гестационного возраста (22-27,6 недель и 28-31 недели) в динамике неонатального периода проведено исследование пуповинной и периферической крови. У всех детей с ЭНМТ при рождении установлена сниженная готовность эффекторных клеток к участию в процессах межклеточного взаимодействия (уменьшение количества CD14⁺CD282⁺ и CD14⁺CD157⁺ – моноцитов), у новорожденных гестационного возраста 22-27 недель – к антигенной презентации патогена (снижение экспрессии рецептора HLA-DR⁺). К завершению неонатального периода функциональная активность моноцитов восстанавливается, количество CD14⁺HLA-DR⁺ – клеток превышает показатели доношенных детей.

Ключевые слова: недоношенные дети, функциональная активность моноцитов, неонатальный период

Актуальность. Рядом исследователей показано, что у глубоко недоношенных детей темпы созревания иммунной системы и факторов неспецифической защиты отстают от таковых у доношенных сверстников, поскольку становление нормальных возрастных показателей функционального состояния иммунной системы достаточно пролонгировано в онто-