

Облікова картка ДіР



I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0213U003130

Державний реєстраційний номер: 0110U000153

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 24-01-2013

II. Етап виконання ДіР

Номер етапу: 1

Назва етапу: Дослідження сигнальних механізмів індукції апоптозу злоякісних клітин при голодуванні за аргініном та розробка методів комбінованої протипухлинної ензимотерапії на моделях in vitro

Початок етапу: 01.2010

Закінчення етапу: 12.2012

Вид звітнього документа: Остаточний звіт

III. Відомості про виконавця ДіР

Повне найменування юридичної особи (або ПІБ фізичної особи): Інститут біології клітини
НАН України

Код за ЄДРПОУ: 25255758

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Розмір організації:

Телефон: 032 261 21 08

IV. Відомості про співвиконавців ДіР

V. Відомості про замовника ДіР

Повне найменування юридичної особи (або ПІБ фізичної особи): Національна академія наук

Код за ЄДРПОУ: 02033333

Місцезнаходження: вул. Володимирська, 54, м. Київ, Київ, 01601, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Розмір організації:

Телефон: (044) 234-32-43

VI. Джерела, напрями та обсяги фінансування ДіР

Підстава для проведення ДіР: 34 - договір (замовлення) з центральним органом виконавчої влади, академією наук (головними розпорядниками бюджетних коштів на проведення НДДКР)

Напрямок фінансування: 2.1 - фундаментальні дослідження

Джерела фінансування

7713 - кошти держбюджету

Код програмної класифікації видатків і кредитування (КПКВК): 6541030

Фактичний обсяг фінансування (тис. грн.): 1160

VII. Відомості про ДіР

Назва роботи українською:

Дослідження сигнальних механізмів індукції апоптозу злоякісних клітин при голодуванні за аргініном та розробка методів комбінованої протипухлинної ензимотерапії на моделях *in vitro*

Назва роботи англійською:

The study of signaling mechanisms of apoptosis induction of malignant cells during starvation for arginine and development of combined antitumor enzymotherapy methods on *in vitro* models

Реферат українською:

Розроблено методичні підходи до культивування злоякісних клітин у формі тривимірних культур сфероїдів, проведено порівняльний аналіз впливу голодування за індивідуальними амінокислотами (аргініном, лейцином, лізином та метіоніном) на ріст та життєздатність злоякісних клітин за умов їх культивування в дво- та тривимірній культурах, а також виконано ряд досліджень, спрямованих на встановлення ролі регуляції клітинного циклу та mTOR-опосередкованого сигнального шляху у відповіді пухлинних клітин на голодування за аргініном. Вперше встановлено, що за умов культивування у формі тривимірних сфероїдів злоякісні клітини є більш резистентними до дії дефіциту аргініну, а також лейцину, лізину й метіоніну, у порівнянні з двовимірними моношаровими культурами цих клітин. Клітини пухлин, позитивні за p53 та з конститутивною активацією PI3K-mTOR-Akt/PKB антиапоптичного шляху, є резистентними до голодування за аргініном та іншими незамінними амінокислотами у моношаровій культурі, і навпаки. Показано, що нездатність пухлинних клітин зупинятися у G1 фазі клітинного циклу за умов голодування за аргініном може бути однією з причин їх чутливості до дефіциту цієї амінокислоти. У більшості випадків ця властивість корелює з пошкодженням білка p53. Встановлено, що голодування за аргініном призводить до значних змін морфології клітин і специфічного зниження рухливості злоякісних клітин, незалежно від рівня їх чутливості до дефіциту аргініну. Причиною цього феномену можуть бути зміни в організації цитоскелету. Показано, що застосування аналога аргініну рослинного походження канаваніну в середовищі без аргініну чи в поєднанні з рекомбінантною аргіназою призводить до селективного зниження життєздатності та проліферативного потенціалу епітеліальних пухлинних клітин людини різного органного походження, і незначно впливає на виживання псевдонормальних клітин. Токсична протипухлинна дія канаваніну залежить від синтезу білка *de novo*. Встановлено, що суспензійні клітини лейкемій людини є особливо чутливими до комбінованої терапії на основі голодування за аргініном та канаваніном і гинуть шляхом апоптозу за умов *in vitro*. Також показано, що інкубація в середовищі без аргініну з канаваніном призводить не тільки до зупинки росту сфероїдів пухлинних клітин, як у випадку лише голодування за аргініном, але й до їх часткової дезінтеграції. Як і в моношаровій культурі, канаванін селективно підсилює каспазозалежний апоптоз, індукований голодуванням за аргініном, у пухлинних клітинах у тривимірній сфероїдній культурі.

Реферат англійською:

Methodical approaches to the cultivation of malignant cells in the form of 3-dimensional (3-D) spheroid cultures was designed, a comparative analysis of the impact of starvation on individual amino acids (arginine, leucine, lysine and methionine) on the growth and viability of tumor cells under conditions of its cultivation in 2- (2-D) and 3-dimensional cultures as well as a number of studies aimed at establishing the role of cell cycle regulation and mTOR-mediated signaling pathway in the response of tumor cells to starvation for arginine were executed. It has been shown for the first time that under cultivation in the form of 3-D spheroid malignant cells are more resistant to the action of arginine deficit as well as leucine, lysine and methionine, compared with 2-D monolayer cultures of these cells. Tumor cells, with constitutive activation of antiapoptotic PI3K-mTOR-Akt/PKB pathway and positive for p53, are resistant to starvation for arginine and other essential amino acids in monolayer culture, and vice versa. It is shown that the inability of tumor cells to stop in G1 phase of the cell cycle under conditions of

starvation for arginine may be one of the reasons of their sensitivity to deficiency of this amino acid. In most cases, this property is correlated with damage of p53. It was found that starvation for arginine leads to significant changes in cell morphology and specific reduction in motility of tumor cells, regardless of their degree of sensitivity to arginine deficiency. The reason for this phenomenon may be changes in the organization of the cytoskeleton. It is shown that the use of an analogue of arginine of plant origin canavanine in medium without arginine or in combination with recombinant arginase leads to a selective decrease in viability and proliferative potential of epithelial human tumor cells of different organ origin, and slightly affects the survival of pseudonormal cells. Toxic antitumor effect of canavanine depends on protein synthesis de novo. It was established that suspension cells of human leukemias are especially sensitive to combination therapy based on starvation by arginine and canavanine and die by apoptosis under conditions in vitro. It is also shown that incubation in medium without arginine with canavanine leads not only to stop the growth of spheroid tumor cells, as in the case only starvation for arginine, but also to their partial disintegration. As in monolayer culture, canavanine selectively enhances caspase-dependent apoptosis induced by starvation for arginine in tumor cells in 3-D spheroid culture.

Індекс УДК: 577.2:616-006, 577.214:582.282.23:576.311.34

Коди тематичних рубрик: 34.15.51

Керівники роботи

Власне Прізвище Ім'я По-батькові: Стасик О.В.

Науковий ступінь: к. б. н.

Вчене звання:

Ідентифікатор ORCID ID:

Додаткова інформація:

VIII. Наукова (науково-технічна) продукція (НТП)

Назва НТП українською: Нові підходи до протипухлинної ензимотерапії на основі голодування за аргініном з використанням різних клітинних моделей

Назва НТП англійською: New approaches to antitumor enzymotherapy based on starvation by arginine using various cell models

НТП, яку передбачалося створити:

Причини, через які НТП не було створено:

Отримані результати:

Галузь застосування: Дослідження та розробки в галузі природничих наук

Реєстраційний номер картки технології:

Опис НТП: Розроблено методичні підходи до культивування злоякісних клітин у формі тривимірних культур сфероїдів, проведено порівняльний аналіз впливу голодування за індивідуальними амінокислотами (аргініном, лейцином, лізином та метіоніном) на ріст та життєздатність злоякісних клітин за умов їх культивування в дво- та тривимірній культурах, а також на їх адгезивні властивості, міграцію та інвазивність. Показано, що застосування аналога аргініну рослинного походження канаваніну в середовищі без аргініну чи в поєднанні з рекомбінантною аргіназою призводить до селективного зниження життєздатності та проліферативного потенціалу епітеліальних пухлинних клітин людини різного органного походження. Встановлено, що суспензійні клітини лейкемій людини є особливо чутливими до комбінованої терапії на основі голодування за аргініном та канаваніном і гинуть шляхом апоптозу за умов *in vitro*.

Соціально-економічна спрямованість НТП:

Вплив НТП на довкілля:

Впровадження НТП: Не впроваджено

Практична реалізація НТП

Початок етапу: -

Закінчення етапу:

Споживачі продукції: НАНУ

Перспективні ринки: Україна

Характер співробітництва з інвестором

Потрібний обсяг інвестицій, тис. грн.:

Права, що надаються інвестору після завершення роботи:

Наявність бізнес-плану:

Техніко-економічне обґрунтування:

Потенціальний обсяг продажу, тис. грн.:

Очікуваний термін окупності (років):

Додаткова інформація:

ІХ. Бібліографічний опис

1. Cancer cell sensitivity to arginine deprivation in vitro is not determined by endogenous levels of arginine metabolic enzymes / Y. P. Bobak, B. O. Vynnytska, Y. V. Kurlishchuk [et al.] // Cell. Biol. Int. - 2010. - V. 34, No. 11. - P. 1085-1089.
2. Виділення та характеристика аргінази і людини із рекомбінантних дріжджів *Hansenula polymorpha* / Н.Є. Стасюк, Г.З. Гайда, Є.П. Ковальчук [та ін.] // Укр. біохім. журн. - 2010. - Т.82, №6. - С.14-21.
3. Canavanine augments proapoptotic effects of arginine deprivation in cultured human cancer cells / B. O. Vynnytska, O. M. Mayevska, Y. V. Kurlishchuk [et al.] // Anticancer Drugs. - 2011. - V. 22, No. 2. - P. 148-157.
4. Синтез афінних сорбентів для очищення аргінази І людини із рекомбінантних дріжджів *Hansenula polymorpha* / Стасюк Н., Гайда Г., Гайда А. [та ін.] // Праці НТШ, Хем. Біохем. - 2011. - Т.28. - С.139-149.
5. Effect of nitric oxide donor on viability of human leukemic cells upon arginine deprivation / O. I. Chen, L. S. Lyniv, N. I. Igumentseva, M. L. Barska [et al.] // Біологічні студії / *Studia Biologica*. - 2011. - V. 5, N 2. - P. 17-28.
6. Вплив метаболітів аргініну на життєздатність людських пухлинних клітин за умов дефіциту цієї амінокислоти in vitro / Ю. В. Курліщук, Б. О. Винницька-Мироновська, Я. П. Бобак, О. В. Стасик // Біологічні студії / *Studia Biologica*. - 2011. - Т.5, №2. - С. 5-16.
7. Expression of recombinant human argininosuccinate synthetase in *Escherichia coli* / Vovk O. I., Rzhepetskyi Y. A., Pereverzeva H. G., Stasyk O. V. // Біологічні Студії / *Studia Biologica*. - 2011. - Том 5. - №3 - С. 19-28.
8. Development and evaluation of HPLC method for arginine assay in biological samples / O. Chen, M. Barska, N. Sybirna, O. Stasyk // *Visnyk of Lviv University. Biological Series*. - 2012 (прийнято до друку).
9. Single amino acid arginine starvation efficiently sensitizes cancer cells to canavanine treatment and irradiation / B. Vynnytska-Myronovska, Y. Bobak, Y. Garbe, C. Dittfeld, O. Stasyk, L.A. Kunz-Schughart // *Int. J. Cancer*. - 2012. - V. 130, № 9. - P. 2164 - 2175.
10. Overexpression of (His)(6)-tagged human arginase I in *Saccharomyces cerevisiae* and enzyme purification using metal affinity chromatography / A.E. Zakalskiy, O.M. Zakalska, Y.A. Rzhepetskyi, N. Potocka, O.V. Stasyk, D. Horak, M.V. Gonchar // *Protein Expr Purif*. - 2012. - Vol. 81, №1. -P. 63-68.

Х. Заключні відомості

Керівник юридичної особи

Сибірний Андрій Андрійович

Перелік осіб-виконавців

Ігуменцева Н.І.

Барська М.Л.

Бобак Я.П.

Винницька-Мироновська Б.О.

Вовк О.І.

Воробець З.Д.,

Гриджук О.С.

Данилейченко В.В.

Денег І.О.

Красовська О.С.

Курліщук Ю.В.

Линів Л.С.

Маєвська О.М.

Переверзева Г.Г.

Ржепецький Ю.А.

Сибірна Н.О.

Стасик О.Г.

Чень О.І.

Чернишук С.В.

Шуваєва Г.Ю.

**Відповідальний за підготовку
облікових документів**

Телефон

Реєстратор

**Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є
відповідальним за реєстрацію наукової
діяльності**

