

Облікова картка ДіР



I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0217U000858

Державний реєстраційний номер: 0113U000141

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 10-03-2017

II. Етап виконання ДіР

Номер етапу: 4

Назва етапу: З'ясування молекулярних причин та маркерів чутливості чи резистентності пухлинних клітин до голодування за аргініном.

Початок етапу: 01.2016

Закінчення етапу: 12.2016

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: Президія національної академії наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Розмір організації:

Телефон: 0322 61 21 63, 0322 61 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.): 2968.35
--

VII. Відомості про ДіР

Назва роботи українською:

Дослідження молекулярних механізмів відповіді злоякісних клітин на дію ензимотерапії на основі голодування за аргініном

Назва роботи англійською:

The study of molecular mechanisms in response of tumor cells to the action of enzymotherapy based on starvation for arginine

Реферат українською:

За підсумками виконаної дослідницької роботи було отримано клітини гліоми людини із нокдауном гена аргініносукцинатсинтетази (ASS). Показано, що інгібування експресії гена ASS корелює зі зростанням метастатичного потенціалу досліджуваних пухлинних клітин, зокрема із підвищенням їхньої міграції та клоногенного потенціалу. Встановлено, що дефіцит аргініну селективно призводить до зниження рухливості та інвазивності пухлинних клітин людини різних типів. Причиною пригнічення клітинної рухливості за відсутності аргініну є зниження рівня полімеризованої фракції актинових мікрофіламентів, тоді як обмеження інвазії корелює із зниженням рівня матриксних металопротеїназ, які необхідні для руйнування позаклітинного матриксу. Встановлено, що поєднання дефіциту аргініну з донором нітроген (II) оксиду, нітропрусидом натрію, супроводжується подальшою деполімеризацією актинового цитоскелету та підсилює антинеопластичний потенціал голодування за цією амінокислотою. Вперше показано, що дефіцит аргініну індукує стрес ендоплазматичного ретикулуму у пухлинних клітинах людини солідного типу, згідно із зростанням експресії генів білків-шаперонів ER та активацією двох із трьох сенсорів стресу ER. Контроль динаміки та рівня трансляції в епітеліальних пухлинних клітинах, які голодують за аргініном відбувається за участі mTORC1- та GCN2/eIF2 γ -залежних сигнальних шляхів. Встановлено, що втрата здатності пухлинних клітин зупинятися у фазі G1/G0 клітинного циклу за умов дефіциту аргініну може бути однією з причин їхньої підвищеної чутливості до дефіциту цієї амінокислоти у моношаровій культурі. Для клітин раку товстого кишківника показано, що регуляція трансляції за участі mTORC1- та GCN2/eIF2 γ - залежних сигнальних шляхів при відсутності аргініну визначає відмінності у рівні чутливості до нестачі аргініну між досліджуваними лініями пухлинних клітин так між моношаровою й сфероїдною культурами кожної з ліній, відповідно. Виявлено, що не лише індукція експресії гена ASS, але й концентрація позаклітинного цитруліну визначає ріст та виживання пухлинних клітин в середовищі без аргініну. З'ясовано, що низькі дози аналогі аргініну канаваніну значно підсилюють стрес ендоплазматичного ретикулуму за умов дефіциту аргініну і призводять до зростання цитотоксичного потенціалу запропонованої комбінації чинників. Імовірною причиною є той факт, що застосування канаваніну інгібує індукцію експресії гена ASS і пригнічує здатність пухлинних клітин використовувати цитрулін для синтезу аргініну. Показано, що поєднання дефіциту аргініну з низькими дозами канаваніну значно підвищує радіочутливість пухлинних клітин людини незалежно від концентрації позаклітинного цитруліну.

Реферат англійською:

In the Department of Cell Signaling the research work was conducted aimed to decipher molecular markers of tumor cells sensitivity to arginine deprivation and development of efficient metabolic anticancer modalities based on arginine-degrading enzymes. In particular, human glioma cells with gene knockdown of argininosuccinate synthetase (ASS) were obtained and studied. It was shown that inhibition of ASS gene expression correlate inversely with increased metastatic potential, including the increase in migration and clonogenic potential. We revealed that arginine withdrawal selectively leads to decrease in mobility and invasiveness of human tumor cells of different types. The reason for such an effect on the cell motility is reduction of polymerized fractions of actin microfilaments, while limitation of the invasion correlates with decreased levels of matrix metalloproteinases,

which are necessary for the destruction of the extracellular matrix. The combination of arginine deprivation and sodium nitroprusside, the donor of nitrogen (II) oxide, is accompanied by the additional depolymerization of actin cytoskeleton and leads to intensification of the antineoplastic potential of arginine deficit. It was shown for the first time that arginine deficiency induced the endoplasmic reticulum stress in solid human tumor cells, in accordance with the increased gene expression of chaperones of ER and activation of two out of three sensors of ER stress. Regulation of translation of starved epithelial tumor cells occurs via the mTORC1- and GCN2/eIF2?-dependent signaling pathways. It was established that the loss of the ability of tumor cells to arrest cell cycle in phase G1/G0 under arginine depletion may be one of the reasons for their increased sensitivity to arginine deficiency in monolayer cell culture. For colon cancer cells, it was shown that the regulation of translation by mTORC1- and GCN2/eIF2?-dependent signaling pathways under arginine starvation determines the differential sensitivity to amino acid deficiency between the studied tumor cell lines, as well as between monolayer and spheroid cultures of each particular cell line, respectively. We revealed that not only induction of ASS gene expression, but also the concentration of extracellular citrulline determined the growth and survival of tumor cells in an arginine-free medium. It was found that low doses of the arginine analog canavanine significantly enhance the endoplasmic reticulum stress under arginine depleted conditions and lead to increase of the cytotoxic potential of the proposed treatment combination. Probably the canavanine inhibits the induction of gene expression ASS and inhibits the ability of tumor cells to utilize the citrulline for arginine synthesis. It was shown that the combination of arginine deficiency with low doses of canavanine significantly increases the radiosensitivity of human tumor cells regardless of the extracellular citrulline concentration.

Індекс УДК: 577.113;577.123;547.963.3, 577.214:582.282.23:576.311.34

Коди тематичних рубрик: 31.23.29

Керівники роботи

Власне Прізвище Ім'я По-батькові: Стасик Олег Володимирович

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; протипухлинні препарати.

Назва НТП англійською: New approaches to antitumor enzymotherapy based on starvation by arginine; anticancer drugs.

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: Отримано клітини гліоми людини із нокдауном гена аргініносукцинатсинтетази (ASS). Інгібування експресії гена ASS корелює зі зростанням метастатичного потенціалу досліджуваних пухлинних клітин. Встановлено, що дефіцит аргініну селективно призводить до зниження рухливості та інвазивності пухлинних клітин людини різних типів. Поеднання дефіциту аргініну з донором нітроген (II) оксиду, нітроприсидом натрію, підсилює антинеопластичний потенціал голодування за цією амінокислотою. З'ясовано, що низькі дози аналога аргініну канаваніну підсилюють стрес ендоплазматичного ретикулуму за умов дефіциту аргініну і призводять до зростання цитотоксичного потенціалу запропонованої комбінації чинників. Показано, що поєднання дефіциту аргініну з низькими дозами канаваніну значно підвищує радіочутливість пухлинних клітин людини незалежно від концентрації позаклітинного цитруліну.

Соціально-економічна спрямованість НТП:

Вплив НТП на довкілля:

Впровадження НТП: Не впроваджено

Практична реалізація НТП

Початок етапу: не визначені

Закінчення етапу:

Споживачі продукції: медичні заклади

Перспективні ринки: Україна та глобальний ринок

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:

IX. Бібліографічний опис

- 1.Krasovska O.S., Stasyk O.V., Sibirny A.A. Stable overproducer of hepatitis B surface antigen in the methylotrophic yeast *Hansenula polymorpha* due to multiple integration of heterologous auxotrophic selective markers and defect in peroxisome biogenesis//Appl Microbiol Biotechnol.–2013.–V.97, №23.–P.9969–9979.
- 2.Vynnytska-Myronovska B., Kurlishchuk Y., Bobak Y., Dittfeld C., Kunz-Schughart L.A., Stasyk O. Three-dimensional environment renders cancer cells profoundly less susceptible to a single amino acid starvation//Amino Acids.–2013.–V.45, №5.–P.1221–1230.
- 3.Chen O., Kavalets B., Barska M., Lyniv L., Vovk O., Sybirna N., Stasyk O. Effect of combinational arginase and canavanine treatment on normal human peripheral blood lymphocytes in vitro//Curr.IssuesPharm.Med.Sci.–2013–Vol.26, No.4, P.385–389.
- 4.Sybirna N.O., Brodyak I.V., Barska M.L., Vovk O.I. Participation of Phosphatidylinositol-3'-kinase in Perception and Signal Transduction through Galactosyl-Containing Glycoprotein Receptors of Segmented Leukocytes under Type 1 Diabetes Mellitus//International Journal of Physiology and Pathophysiology.–2013–V.4, №3.–P.213–230.
- 5.Shuvayeva G., Bobak Ya., Igumentseva N., Titone R., Morani F., Stasyk O., Isidoro C. Single amino acid arginine deprivation triggers prosurvival autophagic response in ovarian carcinoma SKOV3//BioMed Research International.–2014.–2014:505041.
- 6.Petryk N., Zhou Y.F., Sybirna K., Mucchielli M.H., Guiard B., Bao W.G., Stasyk O.V., Stasyk O.G., Krasovska O.S., Budin K., Reymond N., Imbeaud S., Coudouel S., Delacroix H., Sibirny A., Bolotin-Fukuhara M. Study of the Hap4-Like Genes Suggests That the Key Regulators of Carbon Metabolism HAP4 and Oxidative Stress Response YAP1 in Yeast Diverged from a Common Ancestor//PLoS One.–2014.–9(12):e112263.
- 7.Stiller M., Molak M., Prost S., Rabeder G., Baryshnikov G., Rosendahl W., Munzel S., Bocherens H., Grandal-d'Anglade A., Hilpert B., Germonpre M., Stasyk O., Pinhasi R., Tintori A., Rohland N., Mohandesan E., Ho Simon Y.W., Hofreiter M., Knapp M. Mitochondrial DNA diversity and evolution of the Pleistocene cave bear complex //Quaternary International.–2014.–V.339–340.–P.224–231.
- 8.Denega I. O., Klymyshyn N. I., Sybirna N. O., Stasyk O. V., Stasyk O. G. Modeling of molecular processes underlying Parkinson's disease in cells of methylotrophic yeast *Hansenula polymorpha*//Біологічні студії/Studia Biologica.–2014.–T.8, №12., C.5–16.
- 9.Pavlyk Yu., Rzhetsky Yu., Jagielski A., Drozak J., Wasik A., Pereverzieva G., Olchowik M., Kunz-Schughart L., Stasyk O., Redowicz M.J. Arginine deprivation affects glioblastoma cell adhesion, invasiveness and actin cytoskeleton organization by impairment of actin arginylation//Amino Acids.–2015.–V.47., P.199–212.
- 10.Stasyk O., Boretsky Yu., Gonchar M., Sibirny A. Recombinant arginine-degrading enzymes in metabolic anticancer therapy and bioanalytics //Cell Biology International.–2015.–V.39.–Is.3.–P.246–252.
- 11.Fedorovych D., Boretsky Y., Bobak Ya., Prokopiv T., Sybirny A. Putative ferroxidases in the flavinogenic yeast *Pichia guilliermondii* are regulated by iron acquisition//Tsitol Genet.–2015.–49(5).–P.13–19.
- 12.Bobak Y., Kurlishchuk Y., Vynnytska-Myronovska B., Grydzuk O., Shuvayeva G., Redowicz M.J., Kunz-Schughart L.A., Stasyk O. Arginine deprivation induces endoplasmic reticulum stress in human solid cancer cells//Int J Biochem Cell Biol.–2016.–P.70.–P.29–38.
- 13.Kurlishchuk Y., Vynnytska-Myronovska B., Grosse-Gehling P., Bobak Y., Manig F., Chen O., Merker S.R., Henle T., Lock S., Stange D.E., Stasyk O., Kunz-Schughart L.A. Co-application of canavanine and irradiation uncouples anticancer potential of arginine deprivation from citrulline availability//Oncotarget.–2016.–V.7(45).–P. 73292–73308.
- 14.Vynnytska-Myronovska B.O., Kurlishchuk Y., Chen O., Bobak Y., Dittfeld C., Huther M., Kunz-Schughart L.A., Stasyk O.V. Arginine starvation in colorectal carcinoma cells: Sensing, impact on translation control and cell cycle distribution//Exp Cell Res.–2016.–V.341(1).–P.67–74.
- 15.Chen O., Barska M., Lyniv L., Vovk O., Sybirna N., Stasyk O. Effect of combined arginase and nitric oxide donor treatment of normal and leukemic cells in vitro//Studia Biologica.–2016.–V.10, N1.–P.17–28.
- 16.Vovk O., Chen O., Igumentseva N., Senchuk O., Barska M., Sybirna N., Stasyk O. Effect of combined arginase and canavanine treatment on leukemic cells in vitro and in vivo / Ukr. Biochem. J. –2016.–V.88, N2.–P.45–55.
- 17.Барська М., Савран В., Стойка Р. Апоптоз лейкоцитів крові хворих на рак молочної залози//Вісник Львівського університету. Серія біологічна.–2016.– Випуск 73.–С.17–21.
- 18.Стасик О., Романишин О., Деніга І., Климишин Н., Стасик О. Вплив різних концентрацій позаклітинної глюкози на цитотоксичність γ -синуклеїну людини у модельних штамах дріжджів *Hansenula polymorpha*//Вісник Львівського університету. Серія біологічна.–2016.–Випуск 73.–С. 85–95.
- 19.Чень О., Барська М., Вовк О.,

Цимбалюк-Волошин І., Козлова О., Сибірна Н., Стасик О. Вплив рекомбінантної аргінази на життєздатність баластних клітин периферичної крові пацієнтів, хворих на лейкоз, in vitro // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2016. – Випуск 73. – С. 342–346.

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.

Данилейченко В.В.

Карацай О.В.

Курліщук Ю.В.

Линів Л.С.

Маєвська О.М.

Переверзева Г.Г.

Ржепецький Ю.А.

Сенчук О.Ю.

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**

