

Биологическое тестирование новых иридиевых комплексов в качестве флуоресцентных сенсоров молекулярного кислорода *in vitro*

Научный руководитель – Ширманова Марина Вадимовна

Комарова Анастасия Денисовна

Студент (магистр)

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

E-mail: komarova.anastasii@gmail.com

Оценка кислородного статуса в клетках и тканях имеет существенное значение для прогноза течения онкологических заболеваний и процесса лечения [2, 4]. Флуоресцентный имиджинг с временным разрешением (Phosphorescence lifetime imaging, PLIM) является перспективным оптическим методом оценки содержания кислорода в клетках и тканях в режиме реального времени. Применение данного метода основано на измерении времени жизни флуоресценции химических кислород-чувствительных сенсоров [1, 3]. Актуальной задачей является поиск новых флуоресцентных сенсоров, обладающих высокой степенью кислород-зависимого тушения флуоресценции, способных эффективно накапливаться в клетках и тканях и не имеющих выраженной токсичности.

Целью работы было биологическое тестирование новых водорастворимых комплексов на основе иридия(III), в качестве флуоресцентных сенсоров молекулярного кислорода в опухолевых клетках *in vitro*.

В качестве флуоресцентных сенсоров на кислород были исследованы водорастворимые комплексы на основе Ir(III): Ir-1, Ir-2, Ir-2a. Цитотоксичность комплексов определяли методом МТТ-теста, измерение оптической плотности производили спектрофотометрически на мультимодальном планшетном ридере (SynergyTMMx; BioTek® Instruments, Inc.). *In vitro* исследования проводились на клеточной линии СТ26 (колоректальный рак мыши). Исследование динамики проникновения комплексов в живые опухолевые клетки *in vitro* и субклеточного распределения проводили с помощью лазерного сканирующего микроскопа LSM 880 (Carl Zeiss, Германия) при возбуждении на длине волны 543 нм, с мощностью лазера 8 мВт. Детекция сигнала комплекса производилась в диапазоне 650 - 750 нм. Оценка вариации времен жизни флуоресценции комплексов в условиях гипоксии и нормоксии *in vitro* осуществлялась методом PLIM (Becker & Hickl, Германия) при двухфотонном возбуждении на длине волны 760 нм, детекция сигнала осуществлялась в диапазоне 596 - 660 нм.

По данным МТТ-теста выявлены нетоксичные диапазоны концентраций исследуемых комплексов. Для комплекса Ir-1 нетоксичный диапазон концентраций составил от 25 мкМ и ниже (жизнеспособность клеток составляла $80.1 \pm 6.8 \%$), для Ir-2 - менее 125 мкМ ($87.9 \pm 4.5 \%$) и для комплекса Ir-2a - менее 75 мкМ ($83.2 \pm 6.5 \%$). С помощью лазерной сканирующей микроскопии установлено, что флуоресцентные комплексы Ir(III) проникают в живые опухолевые клетки. Интенсивность люминесценции комплексов Ir-2 и Ir-2a увеличивается в период от 1 до 6 часов, что свидетельствует о повышении концентрации комплексов в живых опухолевых клетках. При окраске органелл-специфическими красителями установлено, что комплексы равномерно распределяются в цитоплазме клеток, не проникают в клеточное ядро. Методом PLIM были зафиксированы вариации времен жизни флуоресценции в условиях гипоксии и нормоксии. Время жизни флуоресценции комплекса Ir-2 в условиях нормоксии уменьшилось в 1.6 раз (в условиях нормоксии - 1.48 ± 0.05 мкс, в условиях гипоксии - 2.42 ± 0.09 мкс) и Ir-2a в 1.8 раз (в условиях

нормоксии - $1.04 \pm 0,16$ мкс, в условиях гипоксии - 1.94 ± 0.32 мкс), что свидетельствует о чувствительности комплексов к кислороду.

По результатам исследования можно заключить, что комплексы Ir-2 и Ir-2a перспективны для дальнейших применений в качестве сенсоров кислорода *in vitro* и исследований *in vivo* методом PLIM.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект № 18-73-10021.

Источники и литература

- 1) 1. Becker W., Jelzow A., Shcheslavskiy V. Fluorescence lifetime imaging by multidimensional TCSPC adds new dimensions to biomedical imaging // Biophotonics. 2015. V. 53. № 5. p. 52–66.
- 2) 2. Nakazawa M.S., Keith B., Simon M.C. Oxygen Availability and Metabolic Adaptations // Nat Rev Cancer. 2016. V. 16. № 10. p. 663–673.
- 3) 3. Shcheslavskiy V.I., Neubauer A., Bukowiecki R., Dinter F., Becker W., Combined fluorescence and phosphorescence lifetime imaging // Applied Physics Letters. 2016. V. 108. № 9. p. 108.
- 4) 4. Vaupel P., Mayer A. Hypoxia in cancer: significance and impact on clinical outcome // Cancer Metastasis Rev. 2007. V. 26. p. 225–239.