

## **Влияние ингибитора киназы mTOR на состояние дормантности и анализ референсных генов в дормантных раковых клетках**

**Научный руководитель – Суворова Ирина Игоревна**

***Исхакова Элина Руслановна***

*Студент (магистр)*

Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет,

Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: 1808elina@gmail.com*

Киназа mTOR является важной мишенью для элиминации опухолевых клеток с повышенной активностью сигнального пути PI3K/mTOR, обеспечивающего их рост и пролиферацию [1, 2]. Блокирование mTOR приводит к уменьшению опухолей, но также вызывает появление дормантных раковых клеток. Дормантность — это малоизученное состояние, характеризующееся остановкой пролиферации на стадии G1/G0 клеточного цикла. Супрессия mTOR-зависимой трансляции активирует альтернативные пути синтеза белка, что изменяет внутриклеточный протеостаз [3].

При использовании химиотерапевтических агентов, ингибирующих mTOR, возможно возникновение резистентных к лекарственным препаратам раковых клеток. В нашем исследовании AZD8055, ингибитор mTOR, использовался для перевода пролиферирующих клеток в состояние дормантности без индукции клеточной гибели. Популяции клеток A549, T98G и PA-1 возобновились через 1-2 недели после обработки AZD8055, не показывая признаков клеточной смерти (рис.1). Таким образом, концентрация AZD8055 в 10 мкМ оказалась оптимальной для создания дормантных клеток *in vitro*.

Мы также проанализировали морфологические изменения клеток при действии AZD8055. Через неделю обработки клетки уменьшились в размере и приобрели более вытянутую форму, что коррелировало с уменьшением объема цитоплазмы и ядра (рис.2). Эти изменения свидетельствуют о преобразовании фенотипа дормантных клеток.

Для анализа генной экспрессии дормантных клеток необходимо выбрать стабильные референсные гены [4, 5]. В нашем исследовании были выбраны 12 кандидатов, участвующих в синтезе белка, метаболизме, формировании цитоскелета и иммунной реакции. Оценка стабильности этих генов с помощью алгоритмов NormFinder, BestKeeper и geNorm показала, что популярные в применении гены ACTB, RPS18, RPL13A и RPS23 не могут использоваться как референсные. Гены B2M, YWHAZ и TUBA1A показали более стабильные результаты и могут быть использованы для нормализации данных ПЦР.

Полученные результаты подчеркивают важность выбора подходящих референсных генов для изучения состояния дормантности раковых клеток и необходимость дальнейших исследований в этой области.

### **Источники и литература**

- 1) Liu Y. et al. mTOR inhibition attenuates chemosensitivity through the induction of chemotherapy resistant persisters // Nat Commun. Nature Publishing Group, 2022. Vol. 13, № 1. P. 7047.
- 2) Rehman S.K. et al. Colorectal Cancer Cells Enter a Diapause-like DTP State to Survive Chemotherapy // Cell. 2021. Vol. 184, № 1. P. 226-242.e21.
- 3) Shin S. et al. mTOR inhibition reprograms cellular proteostasis by regulating eIF3D-mediated selective mRNA translation and promotes cell phenotype switching // Cell Reports. 2023. Vol. 42, № 8. P. 112868.
- 4) Curis E. et al. Selecting reference genes in RT-qPCR based on equivalence tests: a network based approach // Sci Rep. Nature Publishing Group, 2019. Vol. 9, № 1. P. 16231.
- 5) Kozera B., Rapacz M. Reference genes in real-time PCR // J Appl Genetics. 2013. Vol. 54, № 4. P. 391–406.

### Иллюстрации

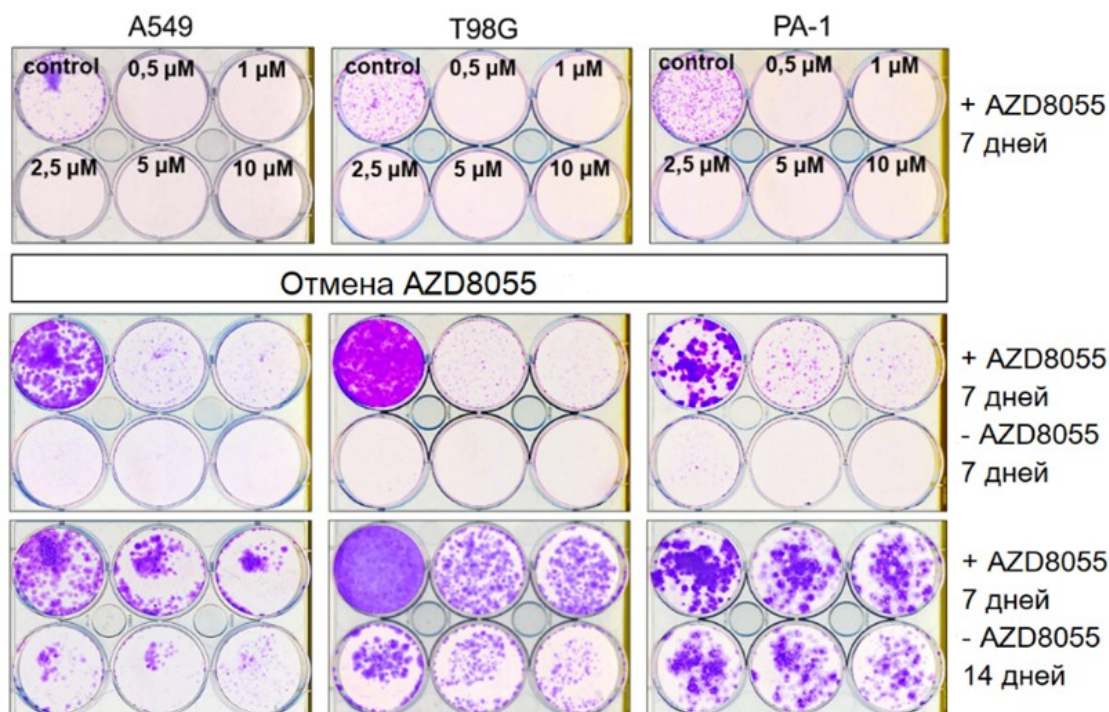


Рис. : Восстановление популяции опухолевых клеток A549, T98G и PA-1, обработанных AZD8055

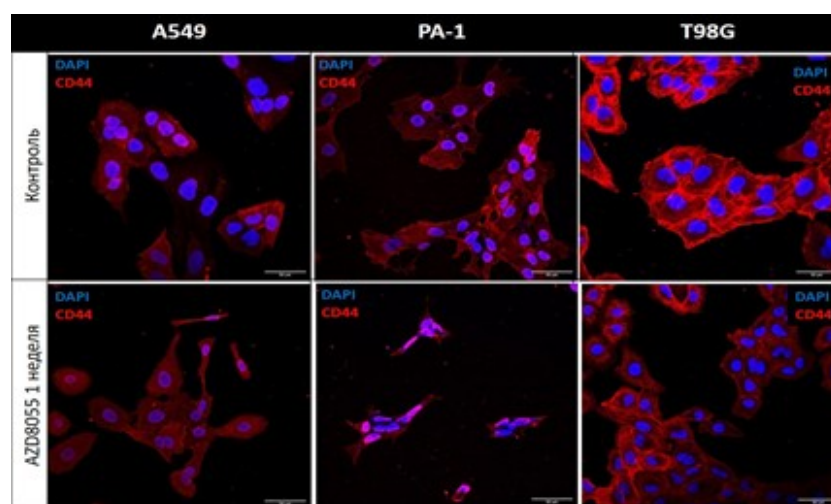


Рис. : Окрашивание антителами против CD44 (красный) в контрольных и обработанных ингибитором AZD8055 (10 мкМ, 1 неделя) клетках