

Разработан метод получения ребёнка «от трёх родителей» – дело в том, что существуют митохондриальные наследственные заболевания (МНЗ), при которых женщина не может родить здорового ребёнка. При переносе ядра из оплодотворённой яйцеклетки женщины с МНЗ в цитоплазму клетки донора ребёнок получает генетический материал не только от своих родителей, но и гены митохондрий от женщины, цитоплазма яйцеклетки которой была использована.

Наиболее революционным является открытие в 2013 г. технологии «CRISPR/Cas9», позволяющей редактировать ДНК. Данный метод может использоваться для лечения любых генетических болезней человека, а также позволяет редактировать ДНК эмбрионов для придания им новых свойств. Метод апробирован на разнообразных организмах и продолжает быстро совершенствоваться [4]. Обсуждается программа искусственного придания детям генов талантов и способностей. К чему это может привести? Например, селекция эмбрионов по полу может нарушить существующее в популяции соотношение полов, что приведет к серьезным негативным последствиям. Что же касается редактирования ДНК эмбриона, то проводить его по медицинским показаниям – это одно, а изменять ДНК здорового эмбриона – это совсем другое!

В конце 2016 г. появилось сенсационное сообщение о первом опыте генного омоложения человека с помощью фермента теломеразы. Если ввести в клетки гены теломеразной обратной транскриптазы, они смогут постоянно удлинять длину теломер, клетки будут оставаться молодыми. Методика успешно опробована на животных. 44-летняя Элизабет Пэрриш, руководитель американской компании BioViva, решила испытать на себе уникальную методику омоложения. Уже есть первые потрясающие результаты – лейкоциты в крови Пэрриш стали биологически моложе, а теломеры «удлинились» на 20 лет. Считают, что этот метод – путь к бессмертию, но что тогда будет с населением планеты?

Открытия генетики 21-го века дают возможность не только избавить человечество от наследственных болезней, но и усовершенствовать природу человека, заменив естественную эволюцию на научно-техническую или «автоэволюцию» [5]. И хотя эти планы кажутся сейчас не приемлимыми с морально-этической точки зрения, прогресс остановить нельзя – возможно, в недалеком будущем мы придем и к этому!

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Наука вне морали // Химия и жизнь – № 7. – 1975. – С. 8–10.
2. Дубинин, Н. П. Генетика и будущее человечества / Н. П. Дубинин // Знание. – М., 1971. – С. 19.
3. Моссэ, И. Б. Генетика раскрывает тайны жизни // Наука и техника. – Минск, 1979.
4. Edwards, R. G., Gardner, R. L. Sexing of live rabbit blastocysts // Nature. –1997. – Т. 214. – Р. 576–577.
5. Лем, С. Сумма технологии / С. Лем // Мир. – М., 1968.

### СВЯЗЫВАНИЕ РАСТВОРИМОГО N-КОНЦЕВОГО ЭКСТРАКЛЕТОЧНОГО ФРАГМЕНТА РЕЦЕПТОРА CXCR2 С ИНТЕРЛЕЙКИНОМ-8 ЧЕЛОВЕКА В ТВЕРДОФАЗНОМ РАДИОИММУНОМ АНАЛИЗЕ

### BINDING OF SOLUBLE N-TERMINAL EXTRACELLULAR FRAGMENT OF HUMAN CXCR2 RECEPTOR TO INTERLEUKIN-8 IN A SOLID PHASE RADIOIMMUNOASSAY

*Н. Н. Нашкевич*

*N. Nashkevich*

*Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,  
г. Минск, Республика Беларусь  
nnash2001@mail.ru*

*Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus*

В работе изучали способность растворимого N-концевого экстра-клеточного фрагмента CXCR2 нативного гликопептида pCXCR2 и его синтетических пептидных аналогов связывать соответствующие лиганды рецептора – СХС-хемокины ИЛ-8 и НАП-2 в высокочувствительном твердофазном РИА. Было показано незначительное дозозависимое связывание меченых лигандов твердофазными аналогами рецептора (от 1 до 8 % вносимых меченых хемокинов). Весьма низкие показатели связывания в диапазоне физиологических концентраций лигандов указывают на недостаточно афинное и специфичное связывание изучаемых пептидов, что не позволяет предположить наличие у pCXCR2 способности модулировать биологическую активность последних по механизму нейтрализации лиганд-связывающей активности.

In the work the capability of soluble native glycopeptid sCXCR2, N-terminal extracellular CXCR2-fragment, and its synthetic peptide analogs, to bind corresponding ligands CXC-chemokines Il-8 and NAP-2 in a sensitive solid phase RIA was studied. It was shown slight doze-dependent binding of iodinated ligands to solid phase sCXCR2 and

analogues (from 1 to 8 % of ligands included in assay). Low characteristics of the binding in the range of physiological ligand concentrations suggest not sufficient affinity and specificity of the binding of studied peptides and do not show evident capability of sCXCR2 to modulate bioactivity of the ligands through neutralizing ligand-binding activity mechanism.

**Ключевые слова:** растворимый рецептор, CXCR2, лиганд, СХС-хемокин, интерлейкин-8, твердофазный радиоиммунный анализ.

**Keywords:** soluble receptor, CXCR2, ligand, СХС-chemokine, interleukin-8, solid phase radioimmunoassay.

Полиморфно-ядерные лейкоциты (ПМН) играют ключевую роль в антибактериальной защите организма. Их способность мигрировать из циркуляции в очаг воспаления и уничтожать патогенные микроорганизмы опосредуется СХС-хемокинами и их рецепторами CXCR1 и CXCR2. Растворимый аналог рецептора CXCR2 N-концевой экстраклеточный фрагмент (pCXCR2) обнаружен в супернатантах культур активированных ПМН, выявляется *in vivo* в биологических жидкостях человека (кровь, моча, ликвор, перитонеальный экссудат) в норме и при патологических состояниях; выявлены изменения содержания pCXCR в крови и моче матери в ходе беременности [1–4]. Пептидная часть pCXCR2 соответствует первым 33-м аминокислотным остаткам CXCR2, среди которых – последовательность для связывания лиганда [3].

На сегодняшний день биологическая роль pCXCR2 не ясна. Ранее нами была продемонстрирована в тестах *in vitro* неспособность pCXCR2 нейтрализовать связывание клеточными рецепторами CXCR1 и CXCR2 таких лигандов, как интерлейкин-8 (ИЛ-8) и нейтрофилы активирующий пептид-2 (НАП-2), что пока не позволяет сделать вывод о проявлении pCXCR2 антагонистической либо агонистической активности [5].

Цель данного исследования – проверка способности растворимого N-концевого экстра-клеточного фрагмента pCXCR2 принципиально связывать лиганды – СХС-хемокины ИЛ-8 и НАП-2 в высокочувствительном радиоиммунном анализе (РИА), в котором на твердой фазе иммобилизована одна из взаимодействующих молекул. Даже низкоафинное связывание могло бы указывать на потенциальную роль растворимой формы рецептора в стабилизации лиганда либо на возможное участие в модуляции действия биологически активного лиганда в условиях *in vivo* в сочетании с другими факторами.

**Материалы и методы исследования.** Работа выполнена на базе РНПЦ гематологии и трансфузиологии (РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий) МЗ РБ, г. Минск, Республика Беларусь. В работе использованы рекомбинантные ИЛ-8 и НАП-2 («Peprotech»), моноклональное антитело к ИЛ-8 (МКА 4С) [6]. Белок pCXCR2 был выделен из мочи здоровых доноров методом иммуноаффинной сорбции, как описано ранее [3], и предоставлен д.м.н. Н. Н. Войтенком. Им же предоставлены синтетические пептиды, соответствующие аминокислотной последовательности N-концевой части CXCR2 в положениях 6–48 и 1–21 [1]. Чистота препаратов составила более 95 % по данным гельпроникающей хроматографии. Мечение пептидов для РИА проводили, как описано в [5]. Пептиды сорбировали в лунках планшетов для РИА («Costar»). Анализ проводили во влажной камере в буфере PBS-BSA в течение 60 мин при 4°С в присутствии и отсутствии МКА 4С, удельная радиоактивность  $^{125}\text{I}$ -ИЛ-8 была  $2,5 \times 10^5$  Ки/моль. Радиоактивность оценивали на счетчике Behring Gamma Counter 1612.

Результаты исследования и их обсуждение. Для определения специфического связывания лигандов CXCR2 с нативным pCXCR2 был проведен РИА, в котором твердофазные пептиды: нативный гликозилированный пептид pCXCR2, синтетические пептиды CXCR2(1-21) и CXCR2(6-48), а также контрольный белок БСА, инкубировали с жидкофазными иодированными лигандами  $^{125}\text{I}$ -ИЛ-8 и  $^{125}\text{I}$ -НАП-2, взятыми в различных концентрациях. В диапазоне физиологических концентраций меченых хемокинов существенного связывания в РИА не наблюдалось: с нативным pCXCR2 связывалось около 1 % внесенных меченых хемокинов при концентрациях 7,2 нг/мл  $^{125}\text{I}$ -НАП-2 и 3 нг/мл  $^{125}\text{I}$ -ИЛ-8. Связывание иодированного НАП-2 могло быть затруднено возможным изменением конформации молекулы после пришивания метки, поэтому дальнейшие эксперименты проводили с  $^{125}\text{I}$ -ИЛ-8. При повышении концентрации  $^{125}\text{I}$ -ИЛ-8 до 300 нг/мл связывание с pCXCR2 повысилось почти до 6 %, а в случае негликозилированного пептида CXCR2(6-48) – до 8 %. БСА не присоединял меченые хемокины в РИА (0,3 % связывания при концентрации  $^{125}\text{I}$ -ИЛ-8 300 нМ). Специфическое антитело МКА 4С, взятое в анализ в 10-кратном молярном избытке по отношению к лиганду, достоверно ингибировало связывание 300 нМ  $^{125}\text{I}$ -ИЛ-8 на 62 % в случае pCXCR2 и на 83 % для пептида CXCR2(6-48). Данные указывают на дозозависимое, однако весьма слабоафинное связывание pCXCR с лигандами либо на недостаточную специфичность такого связывания в тесте.

Наличие специфического связывания pCXCR2 с лигандами CXCR2-рецептора было бы индикатором потенциальной способности растворимого фрагмента модулировать биологическую активность последних по механизму нейтрализации лиганд-связывающей активности. Выявленные характеристики связывания нативного pCXCR2 и синтетических его фрагментов в РИА указывают на их вероятную неспособность афинно связываться с ИЛ-8 и играть роль типичных растворимых рецепторов по отношению к нему (н.п., выступать ингибиторами лиганда). С другой стороны, полученные результаты оставляют открытым вопрос о возможном участии pCXCR2 в иных лиганд-опосредованных клеточных реакциях в условиях *in vivo* в сочетании с другими факторами, в том числе в патологических условиях.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Акалович, С. Т. Выявление и иммунохимическая характеристика растворимой формы рецептора CXCR2 интерлейкина-8 человека / С. Т. Акалович [и др.] // Доклады НАН Беларуси. – 2008. – № 6. – С. 87–92.
2. Котлинский, К. В. Биохимическая характеристика растворимой формы рецептора CXCR2 интерлейкина-8 человека / К. В. Котлинский [и др.] // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 2009. – № 2. – С. 85–89.
3. Котлинская, Ю. В. Растворимая форма рецептора интерлейкина-8 CXCR2 в качестве маркера вовлечения нейтрофильных лейкоцитов крови в локальный воспалительный процесс / Ю.В. Котлинская [и др.] // Проблемы здоровья и экологии, приложение № 2. – 2011. – № 2. – С. 45–49.
4. Doroshenko, T. Phagocytosing neutrophils down-regulate the expression of chemokine receptors CXCR1 and CXCR2 / T. Doroshenko [et al.] // Blood. – 2002. – V. 100. – P. 2668–2671.
5. Котлинская, Ю. В. Анализ лиганд-связывающей активности растворимого N-концевого экстраклеточного фрагмента рецептора CXCR2 человека / Ю. В. Котлинская, Н. Н. Нашкевич, К. В. Котлинский, Т. М. Дорошенко, Н. Н. Войтенко // Актуальные проблемы гематологии и трансфузиологии: сб. трудов. VII съезда гематологов и трансфузиологов, Минск, 24–25 мая 2012 г./ Респ. науч.-практ. центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий. – Минск, 2012. – С. 193–195.
6. Nashkevich, N. N. A monoclonal antibody and an enzyme immunoassay for human Ala-IL-8<sub>77</sub> / N. N. Nashkevich [et al.] / J. Immunol. Methods. – 2002. – V. 270, № 1. – P. 37–51.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ЦИКЛИЧЕСКОГО ДИМЕРНОГО 3',5'-ГУАНОЗИНМОНОФОСФАТА И ЕГО СТРУКТУРНЫХ АНАЛОГОВ НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ Т-ЛИМФОЦИТОВ

### COMPARATIVE ANALYSIS OF THE CYCLIC DIMERIC 3',5'-GUANOSINE MONOPHOSPHATE AND ITS STRUCTURAL ANALOGUES INFLUENCE ON T-LYMPHOCYTES PROLIFERATION

**Д. Б. Нижегородова<sup>1</sup>, М. Ю. Юркевич<sup>1</sup>, Д. С. Пригожая<sup>1</sup>,  
А. С. Щеколова<sup>2</sup>, А. И. Зинченко<sup>2</sup>, М. М. Зафранская<sup>1</sup>, С. Б. Бокуть<sup>1</sup>  
D. Nizheharodava<sup>1</sup>, M. Yurkevich<sup>1</sup>, D. Pryhozhaya<sup>1</sup>, A. Shchekolova<sup>2</sup>,  
A. Zinchenko<sup>2</sup>, M. Zafranskaya<sup>1</sup>, S. Bokut<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,  
zafranskaya@gmail.com, bokut\_sergey@mail.ru

<sup>2</sup>Институт микробиологии НАН Беларуси  
г. Минск, Республика Беларусь  
zinch@mbio.bas-net.by

<sup>1</sup>Belarusian State University, ISEI BSU,

<sup>2</sup>Institute of Microbiology, National Academy of Sciences, Minsk, Republic of Belarus

Изучено влияние димерных пуриннуклеозидмонофосфатов c-di-GMP, c-di-araGMP и c-di-deoxyGMP на жизнеспособность, митоген- и антигенспецифическую пролиферацию Т-лимфоцитов периферической крови. Показано, что c-di-GMP и его аналоги c-di-araGMP и c-di-deoxyGMP не оказывают цитотоксического эффекта на жизнеспособность клеток, количество и митоген-индуцированную пролиферацию Т-лимфоцитов, однако вызывают иммуносупрессию пролиферации антиген-специфических Т-клеток.

c-di-GMP and its analogues efficiently inhibits specific and slightly nonspecific proliferative activity of T-lymphocytes. This data suggest that the effect of c-di-GMP and its analogues might be the result of the suppression of autoreactive T-cell subsets and their reactivity to MOG.

**Ключевые слова:** димерные пуриннуклеозидмонофосфаты, митоген- и антигенспецифическая пролиферация Т-клеток.

**Keywords:** dimeric purine nucleoside monophosphates, specific and nonspecific proliferative activity of T-lymphocytes.

Циклические димерные пуриннуклеозидмонофосфаты представляют собой сигнальные молекулы нуклеиновой природы, обеспечивающие регуляцию множества внутриклеточных процессов в бактериальных и эукариотических клетках. Так, в клетках млекопитающих в ответ на появление цитоплазматической двухцепочечной ДНК происходит активация специфической синтетазы, катализирующей образование вторичного мессенджера