

РЕГУЛЯЦІЯ КЛІТИННОГО ЦИКЛУ *GC-1 spg* і *GC-2 spd*

Шемедюк Н.П.

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С. З. Гжицького, м Львів, Україна
natshem13@gmail.com

Для забезпечення стабільності існування клітини важливими процесами є регуляція клітинного циклу і апоптоз. Молекулярні механізми регуляції клітинного циклу і апоптозу досить складні. Їх вивчення є актуальним, оскільки саме ці процеси забезпечують вірне відтворення генетичної інформації у дочірніх клітинах, уникнення трансформації клітин. Про запрограмовану загибель клітини свідчить експресія генів, які відповідають за синтез протеїнів, що беруть участь у каскаді біохімічних реакцій апоптозу, зокрема каспази-3, p53 і антиапоптотичний протеїн Bcl-2, участь яких у молекулярних механізмах впливу *Phallus impudicus* на клітинний цикл досліджено.

У народній медицині *Ph. impudicus* використовують як засіб проти ревматизму, подагри, захворюваннях кишківника, серцево-судинних, пухлинних захворюваннях, статевій слабкості, під час хіміо- та променевої терапії, з метою попередження метастазів і рецидиву онкологічних захворювань. Молекулярні механізми протипухлинної дії цього гриба досі досліджуються. Досліджуються окремі біологічно активні речовини (БАР), задіяні у проапоптотичній, антипроліферативній активності щодо пухлинних клітин. Оскільки *Ph. impudicus* властивий широкий спектр цінних фармакологічних властивостей, цікавим є дослідження його токсичності, механізми взаємодії його БАР з ДНК клітини.

Мета роботи аналіз деяких молекулярних механізмів апоптозу і регуляції клітинного циклу клітин ліній сперматоцитів та сперматогоніїв мишей *in vitro* за впливу екстракту *Ph. impudicus*. **Об'єктом дослідження** є вплив *Ph. impudicus* на клітинний цикл клітин ліній сперматогоніїв *GC-1 spg* і сперматоцитів *GC-2 spd* мишей і можливість індукування зміни його профілю БАР екстракту. **Предметом дослідження** є профіль клітинного циклу, експресія генів p53, каспази-3, Bcl-2.

Спорідненість між гормонозалежними пухлинними клітинами і сперматогоніями та сперматоцитами у залежності їхнього функціонування від гормонів. Аспекти роботи є важливими, позаяк можуть додати обґрунтування не лише механізмів токсичності, але й антипроліферативної активності щодо пухлинних клітин *in vitro*.

У дослідженні використано клітинні лінії сперматогоніїв *GC-1 spg* (ATCC CRL-2053) і сперматоцитів *GC-2 spd* (ATCC CRL-2196). Для експерименту клітини інкубували з 3%-вим екстрактом *Ph. impudicus* 48 год. Досліджуючи клітинний цикл, клітини забарвлювали розчином Hoechst 33342 (кінцева концентрація 1мкг/мл). Профіль клітинного циклу досліджено за допомогою InCell Analyzer 2000. Результати подано як відсоток клітин у кожній фазі G0/G1, S та G2/M. У кожному зразку проаналізовано приблизно 1000 клітин. Експресію протеїнів досліджували методом вестерн-блот аналізу у порівнянні з експресією протеїну β-актину як контролю. Статистичний аналіз результатів проводили за допомогою GraphPad Prism ver. 6.0.

За впливу 3 %-вого екстракту *Ph. impudicus* досліджено блокування клітинного циклу у фазі G0/G1 клітинних ліній *GC-1 spg* і *GC-2 spd*, підвищення експресії протеїнів – маркерів апоптозу: каспази-3, p53, інгібування Bcl-2. Це доводить наявність актуальних для медицини БАР у *Ph. impudicus*, мішенню дії яких є ДНК.

Отримані нами результати, схожі з результатами, отриманими науковцями численних сучасних досліджень, виконаних на інших клітинних лініях за впливу флоретину – одної з біологічно активних речовин *Ph. impudicus*. Наші дані свідчать про те, що у клітинах *GC-1 spg* і *GC-2 spd* задіяні механізми запрограмованої загибелі індуковані 3%-вим екстрактом *Ph. impudicus*, найімовірніше таку дію зумовлює халкон флоретин.