**Погрібний Петро Васильович. Дефенсини та регуляція активності рецептора епідермального фактора росту в пухлинних клітинах людини: дис... д-ра біол. наук: 14.01.07 / НАН України; Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є.Кавецького. - К., 2004**

|  |  |
| --- | --- |
| |  | | --- | | Погрібний П.В. Дефенсини та регуляція активності рецептору епідермального фактора росту в пухлинних клітинах людини. – Рукопис.  Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 14.01.07 – онкологія. Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є.Кавецького НАН України, Київ, 2004.  Дисертація присвячена встановленню ролі дефенсинів в аутокринній регуляції активності рецептора епідермального фактора росту (ЕФРр) в пухлинних клітинах людини.  Дослідження проведено на трансформованих клітинах людини ліній A431 та M-HeLa і субліній A431/1522 та M-HeLa 1522, що контрольовано гіперекспресують TФР-a, та зразках хірургічно видалених пухлин вульви та шийки матки 25 та 15 пацієнтів відповідно.  В експериментах in vitro встановлено, що при дії EФР/TФР-a на трансформовані епітеліальні клітини індукується експресія бета-дефенсину-2 людини (hBD-2) на рівні мРНК та білка. Виявлено, що hBD-2 має широкий спектр біологічної активності, а саме антимікробну, протигрибкову, цитотоксичну, здатний концентраційно-залежним шляхом впливати на проліферацію культивованих клітин та інгібувати тирозин- та серин/треонин протеїн-кіназну активність EФРр, Syk, Lyn та PKCm. Отримані результати дали можливість запропонувати гіпотетичну схему, згідно якої hBD-2 може приймати участь в регуляції активності ЕФРр.  Отримано рекомбінантний hBD-2 та анти-hBD-2 моноклональні антитіла, які було використано при проведенні досліджень експресії hBD-2 в пухлинах шийки матки та вульви людини. При дослідженні хірургічно видалених зразків пухлин людини виявлено, що експресія hBD-2 на рівнях мРНК та білка жорстко асоційована з пухлинними клітинами, а також з гіперекспресією ЕФРр та наявністю інфекції папіломатозними вірусами. | |
| |  | | --- | | Робота присвячена дослідженню ролі дефенсинів в регуляції активності рецептора ЕФР в пухлинних клітинах людини. Отримані дані дозволили встановити, що бета-дефенсин-2 людини є аутокринним ефектором протеїн-кіназної активності ЕФРр, і, відповідно, може впливати на проліферацію малігнізованих та нормальних епітеліальних клітин людини.   1. Створено експериментальні клітинні сублінії А431/1522 та M-HeLa/1522, що контрольовано продукують функціонально активний рекомбінантний ТФР-a в зрілій та мембранозв’язаній недопроцесованій формах. 2. Показано, що тривала аутокринна стимуляція клітин сублінії А431/1522 рекомбінантним ТФР-a призводить до зниження рівней фосфорилювання ЕФРр та проліферації клітин та секреції пептиду з властивостями інгібітора кінази ЕФРр. 3. Встановлено ідентичність інгібітора кінази ЕФРр з бета-дефенсином-2 людини (hBD-2). 4. Встановлено, що hBD-2 поряд з широким спектром антимікробної, цитолітичної і гемолітичної активності має властивості інгібітора низки тирозин- та серин/треонін-кіназ ( ЕФРр, , Syk, Lyn та PKCm ). 5. Показано, що в клітинах А431 та M-HeLa експресія гена hBD-2 може бути індукована дією ЕФР, ТФР-a, грам-позитивних бактерій B.subtilis та ліпополісахаридом з P.aeruginosa. 6. Встановлено, що за умов експресії hBD-2 рівень експресії мРНК ЕФРр не змінюється, проте знижується рівень протеїн-кіназної активності ЕФРр. 7. Доведено, що клітини злоякісних новоутворень вульви та шийки матки людини на відміну від умовно-нормальних клітин характеризуються підвищеним рівнем експресії генів hBD-1 і ЕФРр та наявністю експресії hBD-2 на рівні мРНК та білка.   8. Методами генної інженерії отримано та охарактеризовано біологічно-активний рекомбінантний бета-дефенсин-2 людини і оптимізовано умови його продукції .  9. Отримано та охарактеризовано анти-hBD-2-моноклональні антитіла, що специфічно розпізнають рекомбінантний та нативний hBD-2 в Вестерн-блот аналізі та на парафінових зрізах пухлин.  10. Запропоновано схему аутокринної регуляції ЕФРр за участю hBD-2. | |