

## **Расписание лекций факультативного курса «Программируемая гибель клетки».**

### ***18 сентября – Животовский БД – Концепция гибели клеток***

Роль гибели клеток *in vivo*. Классификация типов клеточной гибели. Морфология апоптоза и некроза. Воспаление - неотъемлемая характеристика патологического некроза, связанная с отсутствием фагоцитоза. Роль клеточной гибели в развитии организма. Филогенез гибели клеток. Стадии клеточной гибели. Основные пути гибели клеток: внешний и митохондриальный. Основные семейства белков, участвующих в регуляции гибели клеток. Различия в чувствительности клеток к гибели и времени ее развития. Основные клеточные компартменты принимающие участие в гибели клеток. Дефицит или ускоренная гибель клеток и последствия приводящие к развитию болезней, ассоциированных с гибелью клеток.

### ***25 сентября – Недоспасов СА – Инструктивный апоптоз, его лиганды, рецепторы, медиаторы и белковые модули***

История открытия ФНО. Семейство ФНО и ФНО рецепторов. Подсемейство "рецепторов смерти": TNFR1, CD95, DR3, DR4-5, EDAR. Исключения - NGFR и DR6. ФНО-Рр55 и FAS, откуда возник "домен смерти". Элайнмент первичных структур и трехмерные "фолды" доменов гомотипических взаимодействий в DD, DED, CARD. Передача сигнала ПКГ от CD95 (без деталей, и без объяснения, что такое DISC) и ФНОР (более подробно). Почему ФНО по умолчанию не убивает большинство клеток. Система EDA-EDAR. Система ФНО в эволюции - дрозософила. Возможность некоторых рецепторов ФНО без DD индуцировать апоптоз через другие посредники.

### ***2 октября – Гогвадзе ВГ – Роль митохондрий в гибели клеток***

Функции митохондрий в клетке. Регуляция митохондриями клеточного гомеостаза по кальцию. Митохондрии как источник активных форм кислорода. Участие митохондрии в регуляции различных форм клеточной гибели. Механизмы пермеабиллизации внешней мембраны митохондрий. Пермеабиллизация посредством про-апоптотических белков семейства Bcl-2. Индукция неспецифической проницаемости митохондриальной мембраны вследствие открытия зависимой от кальция поры во внутренней мембране митохондрий. Выход белков из межмембранного пространства точка невозврата, запускающая гибель клетки. Роль митохондрии в качестве переключателя между различными видами клеточной гибели.

### ***9 октября – Черняк БВ – Митохондриально-направленные антиоксиданты***

Митохондрии участвуют во внутриклеточной передаче сигналов: про-апоптотические белки,  $Ca^{2+}$  и активные формы кислорода (АФК). Примеры участия митохондриальных АФК в развитии иммунного ответа: NLRP3-инфламмосома и TRAF6-зависимая бактерицидная активность макрофагов. Механизмы образования АФК в митохондриях. Митохондриально-направленные соединения – катионы, проникающие через мембрану. Антиоксиданты. Тестирование препаратов *in vitro*. Примеры эффективного антиапоптотического, противовоспалительного и про-дифференцировочного действия. Мегапроект «Практическое использование ионов Скулачева».

## ***16 октября – Животовский БД – Протеазы, участвующие в гибели клеток***

Семейства протеаз, принимающих участие в гибели клеток. Апикальные (инициирующие) и "расщепляющие" группы каспаз. Платформы активации каспаз. Доменные структуры каспаз. Функциональное отличие каспаз, имеющих различные домены. Регулирование каспаз: биохимическое, ингибирующее, протеолитическое. Последовательность между активацией каспаз, биохимическими и морфологическими изменениями в гибнущих клетках. Функциональные классы белков расщепляющиеся каспазами. Типы гибели, в которых активируются каспазы. Участие каспаз в рецепторном, митохондриальном и ядерном механизмах апоптоза. Внутриклеточная локализация каспаз. Неапоптотические функции каспаз. Фенотипические изменения как результат нокаута каспаз. Роль протеаз в кросс-токе между апоптозом и аутофагией. Роль катепсинов в гибели клеток. Внутриклеточные ингибиторы каспаз. Роль протеасом в развитии гибели клеток.

## ***23 октября – Гогвадзе ВГ – Митохондрии в опухолевых клетках – что в них особенного?***

В двадцатых годах прошлого века Отто Варбург заметил, что опухолевые клетки восполняют потребности в АТФ за счет гликолиза даже в аэробных условиях, когда, согласно Луи Пастеру, гликолиз должен быть подавлен. Подобное поведение опухолевых клеток получило название гликолитический сдвиг. Это обусловлено тем, что быстро пролиферирующие клетки опухоли оказываются в гипоксическом окружении, что заставляет их стимулировать гликолиз. В этом первоочередную роль играет так называемый фактор, индуцируемый гипоксией (hypoxia-inducible factor, HIF).

Оказалось, что HIF способен не только стимулировать гликолиз, но и подавлять активность митохондрий, вследствие чего, митохондрии стабилизируются, становятся более устойчивыми к повреждающим факторам, и, как следствие, при этом происходит подавление митохондриальных путей в апоптозе.

Таким образом, одной из стратегий борьбы со злокачественными новообразованиями может послужить использование митохондрий в качестве мишеней, с целью дестабилизировать эти органеллы, способствовать пермеабиллизации внешней митохондриальной мембраны, и вызывать выход проапоптотических белков.

## ***Промежуточный зачет (только для кафедры иммунологии)***

### ***30 октября – Евстафьева АГ – Роль p53 в ПКГ***

Регуляция уровня и активности опухолевого супрессора p53. Факторы, влияющие на выбор между остановкой клеточного цикла и индукцией апоптоза при активации p53. Зависимость набора генов-мишеней, которые p53 активирует или репрессирует, от уровня p53 и его пост-трансляционных модификаций. Транскрипционные мишени p53, связанные с остановкой клеточного цикла, репарацией ДНК или апоптозом. Стимуляция состояния клеточного старения (сенесенс) посредством p53.

Регулирование рецепторного и митохондриального пути индукции апоптоза посредством p53. Независимые от транскрипции про-апоптотические функции p53. Индукция апоптоза при транслокации p53 в митохондрии. Антиоксидантное и прооксидантное действие белка p53.

## **6 ноября – Лаврик ИН – Система CD95 и системная биология механизмов ПКГ**

CD95, основные домены. PLAD, DD. Комплекс DISC. Основные молекулы, образующие комплекс DISC: CD95, FADD, прокаспазы-8/10, c-FLIP и их основные структурные черты. Механизм активации прокаспазы-8 через образование гомодимеров и *ded*-цепей. Роль прокаспазы-10. Различная роль коротких и длинных изоформ белка c-FLIP в активации прокаспазы-8. Сигнальные пути downstream от комплекса DISC: тип I и тип II клеток. Системная биология/ математическое моделирование биологических процессов -зачем оно нужно. Обыкновенные дифференциальные уравнения, примеры из моделирования комплекса DISC, активации каспазы-8 и ингибирования активации каспазы-8 при помощи белков c-FLIP.

## **13 ноября – Лаврик ИН – Некроптоз**

Три основных типа клеточной гибели: апоптоз, некроптоз/некроз, аутофагия. Различия в морфологии этих трех типов клеточной гибели и особенности морфологии некроптоза/некроза. История открытия некроптоза как типа программируемой клеточной гибели. Понятие некроптоза как программируемой клеточной гибели и некроза как спонтанного типа смерти. Основные участники некроптоза киназы rip1/rip3. Их доменная организация, их модификации. Nec1 как ингибитор киназы rip1 и некроптоза. Комплексы некросома/Рипоптосома. Основные молекулы входящие в состав комплекса: rip1/rip3, fadd, Caspase-8, c-Flip. Деубиквитилирование белка rip1 и фосфорилирование белков rip1/rip3 как основа для индукции некроптоза. Индукция некроптоза при активации tnfr, cd95, TLR, генотоксического стресса. Роль изоформ белка c-Flip в индукции и ингибировании некроптоза. Сигнальные пути downstream от активации некросома/Рипоптосома.

## **20 ноября – Евстафьева АГ – Аутофагия**

Виды аутофагии. Стадии аутофагии. Образование фагофора, ULK1/ULK2 комплекс, роль протеинкиназы mTORC1, роль белка Bif1. Регуляторная роль комплексов PtdIns3K и белка Beclin-1. Конъюгация Atg5-Atg12, процессинг LC3 и встраивание в мембрану LC3B-II, замыкание мембраны и образование аутофагосом. Слияние аутофагосом с лизосомами с образованием аутолизосом. Позитивная и негативная регуляция аутофагии посредством опухолевого супрессора p53. Роль белков семейства Bcl2.

Причинно-следственные связи между аутофагией и клеточной смертью. Критерии клеточной смерти от аутофагии. Взаимная регуляция аутофагии и апоптоза.

## **27 ноября – Недоспасов СА – Invivovertas – проявление мутаций в генах каскадов ПКГ в контексте целого организма**

Методология генетических нокаутов. Интерпретация нокаутов гомологичных генов. Вырожденные и невырожденные функции. Анализ и интерпретация летальных фенотипов. Множественные нокауты. Примеры ошибочного трактования нокаутных фенотипов.

Панель нокаутов генов каспаз. Ошибочность первоначальных работ по каспазам 1 и 3. Фенотипы нокаутов компонентов DISC. Каспаза 8 и некроптоз (RIP3). Фенотипы двойных и тройных нокаутов.

Фенотипы нокаутов компонентов апоптосома. Роль генетического бэкграунда.

Генетические заболевания человека связанные с мутациями в компонентах каскадов ПКГ.

## ***4 декабря – Животовский БД – Методы детекции различных форм гибели клеток***

Основные различия между апоптозом и некрозом. Морфологические методы исследования гибели клеток. Биохимические методы исследования апоптоза.

Анализ протеаз, участвующих в гибели клеток. Анализ изменений в хроматине гибнущих клеток. Методы *in vivo*. Методы анализа некроптоза. Методы анализа аутофагии. Предостережения при оценке и классификации гибели клеток. Методы исследования механизмов ПКГ.