

Лаборатория молекулярной фармакологии

Группа молекулярной биологии

Задачи, методы и инструментарий

Основные задачи группы:

- Выявление мишеней для новых лекарственных препаратов
- Выявление новых мишеней для известных лекарственных препаратов

Методы:

- Исследования профилей экспрессии генов (микрочипы, ПЦР в реальном времени)
- Протеомика (иммунохимия, 2D электрофорез, масс-спектрометрия)
- Культуры клеток (высокоэффективный скрининг, флуоресцентная микроскопия)

Микрочипирование

Оборудование



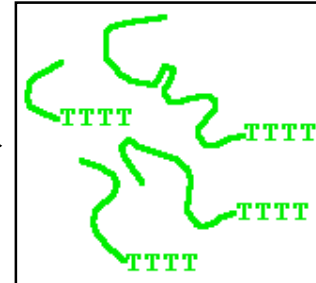
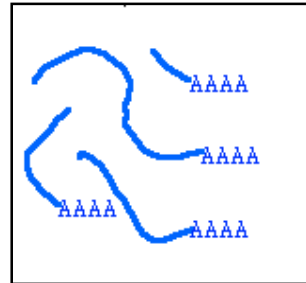
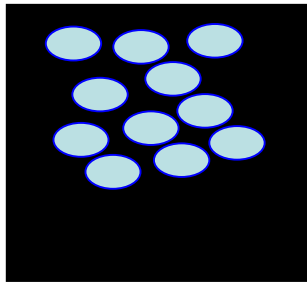
Сканнер микрочипов Agilent
Разрешение 2 микрона
Антиозоновый фильтр
Карусель на 24 чипа



ПЦР в реальном времени
Biorad CFX96
Проверка результатов
микрочипирования на
индивидуальных генах

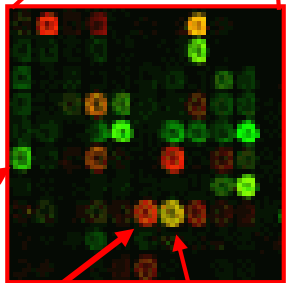
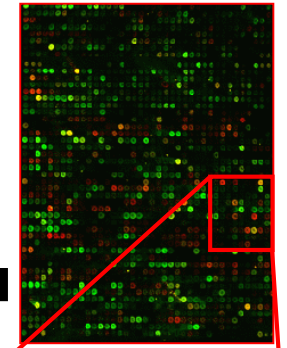
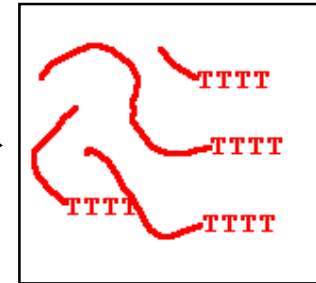
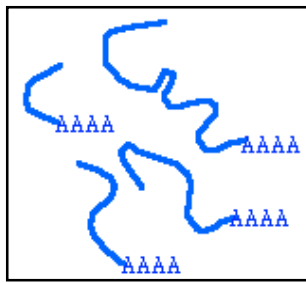
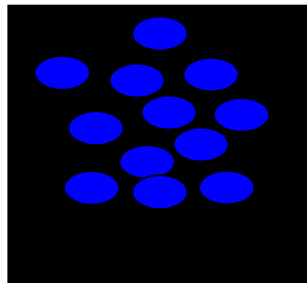
Микрочипы

Нормальные клетки



РНК

мечение гибридизация



Больше в нормальных

Больше в раковых

Одинаково в нормальных
и раковых

Раковые клетки

Практическое применение микрочипов

Открытие новых генов мишеней

Сравнение больных и здоровых клеток и выявление групп генов, играющих ключевую роль в заболевании. Гены, экспрессия которых сильно меняется в больных клетках, часто являются хорошей фармакологической мишенью.

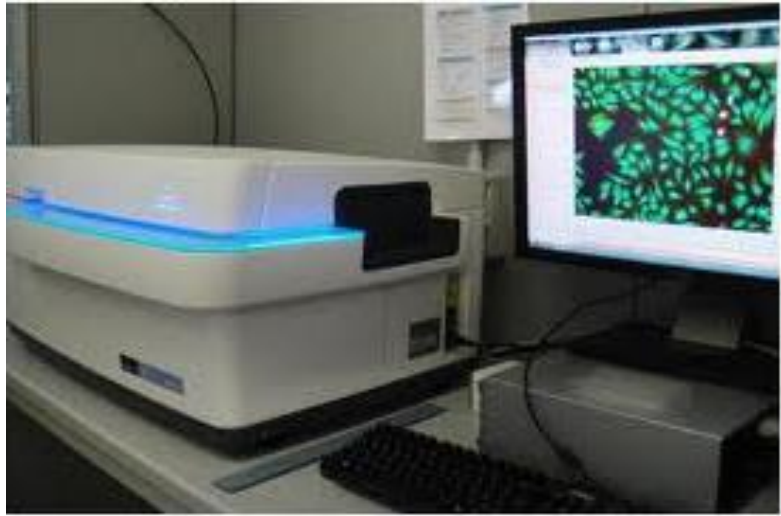
Фармакология и токсикология

Можно выявить индикаторы фармакологической активности (фармакология) или токсичности (токсикология) лекарств на клеточных культурах или тестовых животных.

Диагностика

Микрочипы можно использовать для диагностики патологических состояний, определяя характерные паттерны экспрессии генов

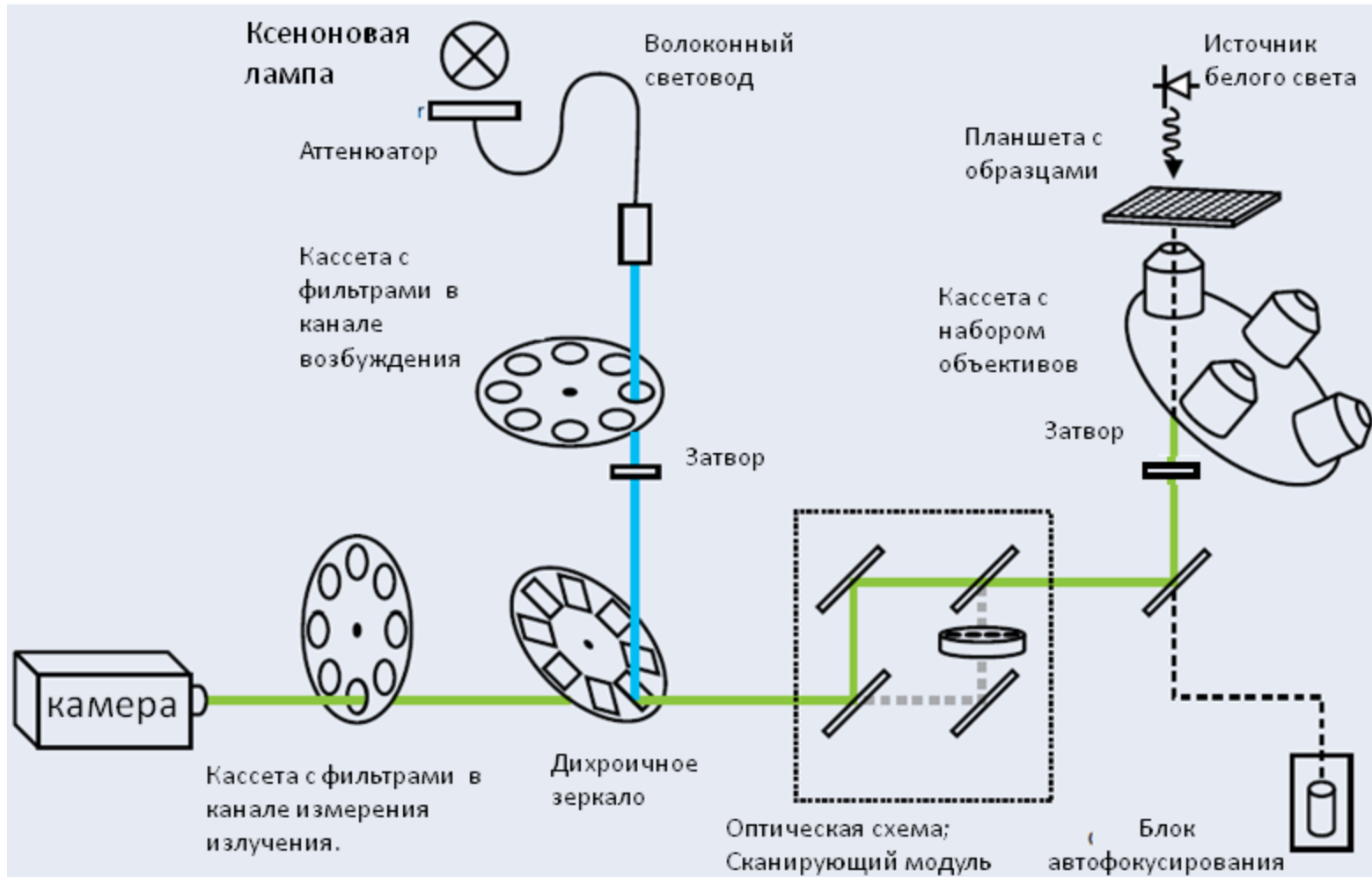
Высокоэффективный скрининг



Система Operetta для прижизненного скрининга клеточных культур фирмы Perkin Elmer

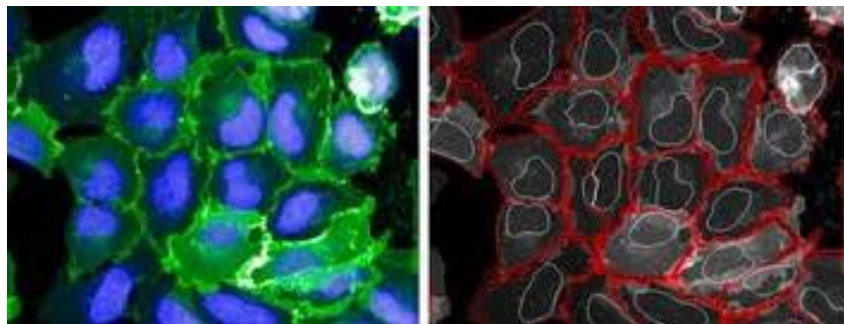
- Прижизненное сканирование клеток на 96 и 384 луночных платах
- Получение четырех цветных флуоресцентных изображений
- Быстрое получение многоцветных изображений на различных длинах волн возбуждения и ближнего поля.
- Широкий выбор объективов от 10x до 100x
- Автоматический компьютерный анализ полученных изображений

Оптическая схема Operetta



Практическое применение системы Operetta

Основное назначение: влияние химических соединений на клеточные процессы



В программное обеспечение заложены программы обсчета десятков клеточных процессов, таких как апоптоз, деление, аутофагия, активация различных сигнальных путей.

Практическое применение системы Operetta в лаборатории

Поиск ингибиторов E3 убиквитин-лигазы Mdm2

Mdm2 определяет процесс деградации p53 при помощи протеасом.

p53 – онкосупрессор, отвечающий за апоптоз раковых клеток. Нарушения p53 обнаруживаются в более 50% случаев рака.



Ингибирование Mdm2 стабилизирует p53 и вызовет апоптоз раковых клеток.

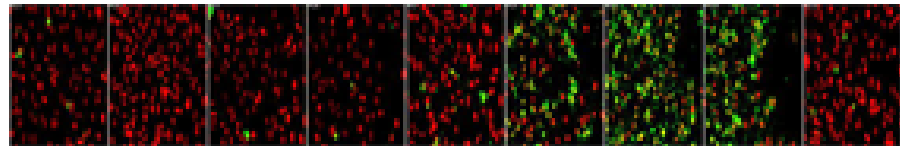
Практическое применение системы Operetta в лаборатории

Стратегия поиска ингибиторов Mdm2:

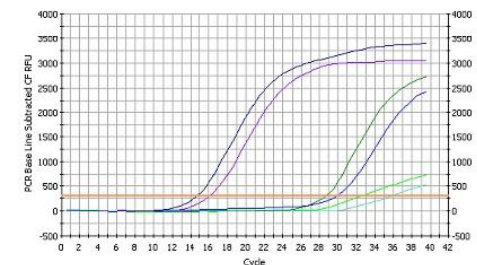
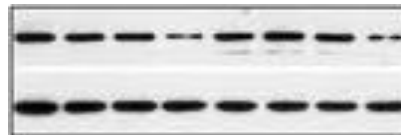
Скрининг библиотеки малых молекул при помощи системы Operetta



Поиск молекул, стабилизирующих p53



Проверка специфичности ингибиторов рутинными методами молекулярной биологии (иммуноблоттинг, ПЦР в реальном времени и т.д.)



Рутинные методы молекулярной биологии

- Работа с рекомбинантными ДНК
Молекулярное клонирование, ПЦР, ПЦР в реальном времени и т.д.



- Анализ белков
SDS электрофорез,
иммунопреципитация, иммуноблоттинг



- Работа с культурами клеток
Трансфекции, создание клеточных моделей,
иммунофлуоресценция

