

УДК 577.152.314:576.08+576.535.5:576.52

РИБОНУКЛЕАЗА *Bacillus pumilus* ИНГИБИРУЕТ МИГРАЦИЮ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ ЧЕЛОВЕКА HuTu 80

© 2020 г. П. В. Зеленихин^a, И. С. Еад Мохамед^{b, c, 1}, А. И. Надырова^{a, 1},
А. А. Сироткина^a, В. В. Ульянова^a, Н. Л. Миронова^b, В. А. Митькевич^{d, *},
А. А. Макаров^d, М. А. Зенкова^b, О. Н. Ильинская^a

^aИнститут фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета, Казань, 420008 Россия

^bИнститут химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, 630090 Россия

^cНовосибирский государственный университет, Новосибирск, 630090 Россия

^dИнститут молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, 119991 Россия

*e-mail: mitkevich@gmail.com

Поступила в редакцию 23.04.2019 г.

После доработки 26.08.2019 г.

Принята к публикации 27.08.2019 г.

Миграция опухолевых клеток из первичного очага в близлежащие ткани является первым этапом метастатического процесса. Способность к инвазии особенно важна для карцином, клеткам которых необходимо преодолеть базальную мембрану и выйти за ее пределы в подлежащие ткани. Вещества, снижающие способность злокачественных клеток к инвазии, представляют интерес в качестве антиметастатических агентов. В настоящей работе в тесте на зарастание царапины (scratch-wound assay) проанализирована возможность подавления способности к миграции ряда линий злокачественных клеток разного происхождения под действием рибонуклеазы (РНказы) *Bacillus pumilus* (биназы). Установлено, что биназа в нетоксичной концентрации 10 мкг/мл значимо подавляет миграционную способность клеток аденокарциномы двенадцатиперстной кишки HuTu 80 при инкубировании в течение 48–72 ч. Антиметастатический потенциал биназы подтверждается данными молекулярного моделирования, показывающими возможность ингибирования биназой клеточных металлопротеиназ, определяющих миграцию опухолевых клеток.

Ключевые слова: рибонуклеаза, биназа, карцинома, меланома, инвазия, онкоген RAS, металлопротеиназы ADAM

DOI: 10.31857/S0026898420010176

ВВЕДЕНИЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения в 2018 г. от онкологических заболеваний умерли 9.6 млн человек. Метастазирование опухоли обычно сопряжено со смертельным исходом. Универсальными процессами, обеспечивающими прогрессию любых опухолей и образование метастазов в отдаленных органах и тканях, являются инвазия и миграция опухолевых клеток. Снижение уровня межклеточной адгезии и приобретение клетками аномальной подвижности приводят к отделению агрессивных клеток от первичного опухолевого очага. Поиск ингибиторов этих процессов активно ведется во всем мире, причем все больше внимания уделяется агентам природ-

ного происхождения. Соединения, выделенные из природных источников, сыграли важную роль в разработке новых противоопухолевых препаратов. С 1940 по 2010 год из 206 соединений естественного происхождения, проявляющих противоопухолевую активность, 112 получили разрешение на клиническое применение [1]. Нафтохиноны, обнаруженные у высших растений 22 семейств, способны ингибировать инвазию, воздействуя на эпителиально-мезенхимальный переход, опухолевые стволовые клетки и белок STAT3. Природный нафтохинон ВВ1608 проходит II фазу клинических испытаний [2]. Представители рода *Streptomyces* продуцируют антибиотики тетрациклинового ряда, среди которых есть и ингибиторы металлопротеиназ, участвующих в преодолении базальной мембраны и продвижении по внеклеточному

¹ Эти авторы внесли равный вклад в выполнение работы.

матриксу [3]. Обнадёживающие результаты показали такие ингибиторы миграции и инвазии, как люминацин, экстракт из морских видов *Streptomyces* [4], и миграцин, также полученный из *Streptomyces* sp. и ингибирующий миграцию и инвазию клеток рака яичников, опосредованную инсулиноподобным фактором роста-1 [5].

В настоящее время пристальное внимание привлекают такие биологические эффекты рибонуклеаз (РНКаза), как контроль роста кровеносных сосудов, токсичность в отношении клеток опухолей, противовирусная активность. Современные представления о роли и функциях РНКаза позволяют рассматривать эти ферменты как возможную альтернативу традиционным химиотерапевтическим средствам в щадящей терапии злокачественных новообразований. Биназа из *Bacillus pumilus* — представитель РНКаза, филогенетически далеких от своих аналогов у млекопитающих и вследствие этого не подверженных действию тканевого ингибитора РНКаза в организме человека, зарекомендовала себя как перспективный агент, индуцирующий апоптоз ряда опухолевых клеток, экспрессирующих онкогены *ras*, *KIT*, *AML/ETO* [6–8], а также подавляющий метастазирование опухолей у животных [9]. Однако необходимо отметить, что ряд неопухолевых клеток (фибробласты NIH3T3 [10], клетки эндотелия пуповинной вены человека HUVEC [11], эпителиальные клетки легких эмбриона крупного рогатого скота, ЛЭК [12]) нечувствителен к биназе в диапазоне концентраций до 300 мкг/мл, что подтверждает селективность действия фермента.

Метастазированию клеток человека препятствуют тканевые ингибиторы металлопротеиназ (ТИМР) — ферментов, вызывающих протеолиз внеклеточного матрикса [13]. Цель настоящей работы состояла в анализе способности биназы ингибировать миграцию опухолевых клеток с учетом возможной селективности ее действия в отношении клеток эпителиального и неэпителиального происхождения, экспрессирующих онкоген *RAS* как мутантный, так и дикого типа, а также в подтверждении антиметастатического потенциала биназы как потенциального агента, блокирующего активность клеточных металлопротеиназ, участвующих в миграции опухолевых клеток.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Фермент. В работе использована биназа, гуанилспецифичная РНКаза *B. pumilus* 7P дикого типа ([ЕС 3.1.27.3], молекулярная масса 12.2 кДа, 109 аминокислотных остатков, $pI = 9.5$), а также коммерческий препарат лиофилизированной панкреатической РНКаза А (“Sigma-Aldrich”, США). Биназа была выделена и очищена из культуральной жидкости нативного продуцента, как описано нами ранее [14]. Каталитическая активность

биназы в отношении дрожжевой РНК, измеренная модифицированным методом Анфинсена [15], составила 14×10^6 ед./мг при pH 8.5.

Условия культивирования и оценка миграции клеток. Линии клеток рака легкого человека A549, печени HepG2, молочной железы MCF-7 и двенадцатиперстной кишки NuTu 80, а также меланомы В16 мыши (коллекция АТСС, США) культивировали при 37°C в среде DMEM (“Invitrogen”, США) с добавлением пенициллина/стрептомицина (по 100 ед./мл) и 10% эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота в атмосфере 5% CO₂. Клетки высевали в 12-луночные культуральные планшеты (20×10^3 клеток на лунку) и выращивали до образования полного монослоя. Перед началом эксперимента по поверхности монослоя при помощи наконечника для автоматической пипетки (200 мкл) проводили максимально идентичные для всех культур прямые линии, очищая от клеток полосу шириной ~1.0–1.25 мм, и заменяли среду на аналогичную, содержащую биназу (2.5–300 мкг/мл). Изображения образцов (не менее 20 в каждом варианте) в репрезентативных участках незанятых клетками областей фиксировали в нулевой временной точке, а затем после культивирования в течение 24, 48 и 72 ч с использованием камеры Olympus SC35 (Япония). Площадь не занятой клетками ростовой поверхности измеряли с использованием сервисной опции “Free hand selection” компьютерной программы ImageJ [16].

Тест на жизнеспособность клеток. Цитотоксичность биназы определяли с использованием теста, основанного на ингибировании пролиферации клеток, измеренной по активности митохондриальных дегидрогеназ, восстанавливающих производные тетразолия (МТТ-тест). Для этого интактные клетки высаживали в 96-луночные планшеты (по 3×10^4 клеток на лунку) и инкубировали в присутствии биназы в диапазоне концентраций 10–1000 мкг/мл в течение 48 ч при 37°C в атмосфере 5%-ного CO₂. По окончании инкубации к клеткам добавляли раствор МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолий бромид, “Sigma-Aldrich”) до концентрации 0.5 мг/мл и инкубировали в течение 3–4 ч в тех же условиях. Среду удаляли, образовавшиеся в клетках кристаллы формазана растворяли в 100 мкл диметилсульфоксида (“Татхимфармпрепарат”, Россия) и измеряли оптическую плотность по разности поглощения на длинах волн $\Delta (A_{570} - A_{630})$ нм на многоканальном спектрофотометре xMark (“BIO-RAD”, США). Данные представляли в виде процента живых клеток относительно контроля.

Молекулярное моделирование. Моделирование проводили на сервере ClusPro с использованием трехмерных структур металлопротеиназы (PDB 3V96B) и биназы (PDB 1GOUA) в качестве рецеп-

тора и лиганда соответственно [17]. Комплекс каталитического домена матричной металлопротеиназы-10 (MMP-10cd) с тканевым ингибитором металлопротеиназы-1 (TIMP-1, PDB 3V96) и модель взаимодействия каталитического домена матричной металлопротеиназы-10 (MMP-10cd, PDB 3V96B) с биназой (PDB 1G0UA) были проанализированы и представлены в шаростержневом формате (balls and sticks).

Статистика. Статистическую обработку результатов проводили в программном пакете GraphPad Prism. При множественном сравнении групп данных использовали тест ANOVA. При этом $p \leq 0.05$ считали достаточным уровнем значимости различий.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Метод зарастания царапины, или раневой поверхности — один из наиболее распространенных методов классического анализа миграции клеток в монослойной культуре. Для оценки способности РНКаз препятствовать миграционной активности опухолевых клеток эпителиального происхождения были выбраны четыре линии опухолевых клеток человека: легких A549, печени HepG2, молочной железы MCF-7 и двенадцатиперстной кишки HuTu 80. В качестве альтернативной линии сравнения использовали неэпителиальные клетки меланомы B16 мыши, развивающейся из меланоцитов и метастазирующей лимфогенным и гематогенным путем почти во все органы.

Установлено, что инкубация в течение 72 ч с биназой в концентрации до 10 мкг/мл не влияла на миграцию клеток HepG2, MCF-7 и A549 (рис. 1а, в, з), тогда как клетки HuTu 80 оказались чувствительными к низким концентрациям биназы и РНКазы А (рис. 2а). Торможение миграции биназой (10 мкг/мл) через 24 ч было недостоверным по сравнению с процессом зарастания царапины в контрольном монослое необработанных клеток, после 48 ч миграционная активность клеток понизилась на 66% (рис. 2б). В отличие от биназы РНКазы А уже через 24 ч снижала миграционную активность клеток, однако, к 48 ч ее ингибирующий эффект составил лишь 29% (рис. 2а). Антимиграционное действие биназы на клетки A549 проявилось только в высокой концентрации (100 мкг/мл) (рис. 1а). Таким образом, антимиграционному действию РНКаз оказались подвержены две из четырех использованных опухолевых линий. Не обнаружено антимиграционного действия биназы на линию опухолевых клеток меланомы B16, имеющих неэпителиальное происхождение (рис. 1д).

Отметим цитотоксический эффект биназы на линии клеток A549 (рис. 1е), HuTu 80 (рис. 1ж) и B16 (рис. 1к), жизнеспособность которых в при-

сутствии 100 мкг/мл биназы снижается через 48 ч на 25.9 ± 8.7 , 74.8 ± 8.8 и $44.3 \pm 13.4\%$ соответственно, по сравнению с контролем. Очевидно, что токсичность биназы вносит вклад в ее антимиграционное действие на клетки A549, но не HuTu 80, уровень миграции которых снижается и в присутствии биназы в нетоксичных концентрациях (рис. 1б). Меланома B16, несмотря на значительное снижение жизнеспособности при обработке биназой в концентрации 50–100 мкг/мл (рис. 1к), не теряет своей высокой миграционной активности — к 72 ч царапины практически полностью зарастают (рис. 1д). Миграционная активность этих клеток не изменяется и при действии биназы в концентрации 300 мкг/мл в течение 12 ч (рис. 3). Учитывая данные по антиметастатической активности биназы в модели меланомы B16 мыши [9], можно предположить, что этот эффект вызван, главным образом, гибелью опухолевых клеток.

Ранее мы показали, что биназа взаимодействует непосредственно с мутантным белком K-RAS^{G12D}, блокируя таким образом сигнальный путь MAPK/ERK и индуцируя апоптоз [18]. Анализ экспрессии активированных онкогенов в опухолях эпителиального происхождения показывает, что подавление инвазии клеток биназой не всегда связано с экспрессией мутантных вариантов белка RAS. Клетки HuTu 80 и MCF-7 содержат онкогены группы RAS дикого типа, как и меланома B16. Клетки A549 экспрессируют мутантный K-RAS^{G12S}, а клетки HepG2 — мутантный N-RAS^{Q61L}. Вероятно, ингибирование биназой функций мутантного K-RAS в клетках A549 важно как для подавления их пролиферации (рис. 1е), так и миграции (рис. 1а). Однако в клетках HuTu 80 биназа индуцирует иные механизмы ингибирования миграции, поскольку антимиграционное действие наблюдается и в присутствии нетоксичных концентраций РНКазы. Эти клетки характеризуются необычайно высоким уровнем экспрессии металлопротеиназ семейства ADAM [база данных GDSC Cell Line Gene Expression Profiles]. Функциональная роль протеаз ADAM заключается в отщеплении внеклеточных фрагментов мембранных белков (так называемый шеддинг). Снижение этой активности ADAM в отношении белков клеточной адгезии может уменьшить риск метастазирования опухолевых клеток [19]. Матричные металлопротеиназы относятся к семейству внеклеточных протеаз, выполняющих важную роль в физиологических и патологических процессах, в частности, в опухолевой трансформации и метастазировании [20]. В случае карцином — это процесс, включающий проникновение опухолевых клеток через базальную мембрану в результате ее разрушения. Как правило, инвазия является первым этапом сложного инвазивно-метастатического каскада, приводящего в даль-

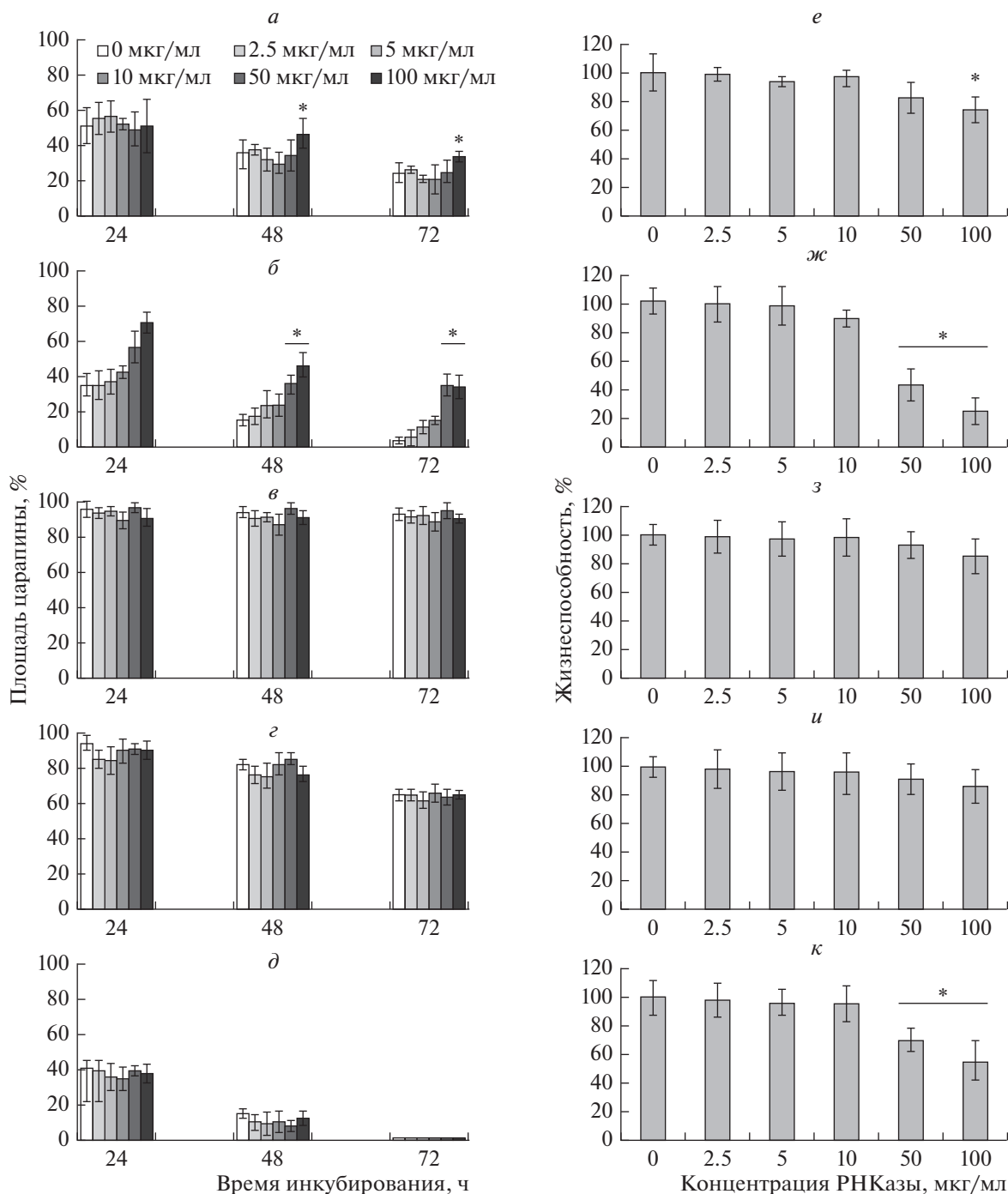


Рис. 1. Влияние биназы на миграцию и жизнеспособность клеток A549 (а, е), NuTu 80 (б, ж), HepG2 (в, з), MCF-7 (г, и) и V16 (д, к). Жизнеспособность клеток оценивали после 48 ч инкубации с биназой. За 100% принята площадь царапины сразу после нанесения (а–д), либо жизнеспособность клеток без обработки РНКазой (е–к). * – $p \leq 0.05$.

нейшем к метастазированию. Тканевые ингибиторы металлопротеиназ (TIMP) ограничивают миграционную способность опухолевых клеток, поэтому аналогичные ингибиторы этих ферментов рассматриваются как перспективные противоопухолевые средства [21].

Каталитический центр металлопротеиназы MMP-10sd представлен консервативным цинк-связывающим мотивом HEXHXXGXXH, в котором боковые цепи H217, H221 и H227 координируют ион цинка, а E218 выступает в качестве общего элемента кислотно-основного катализа [22]. Инги-

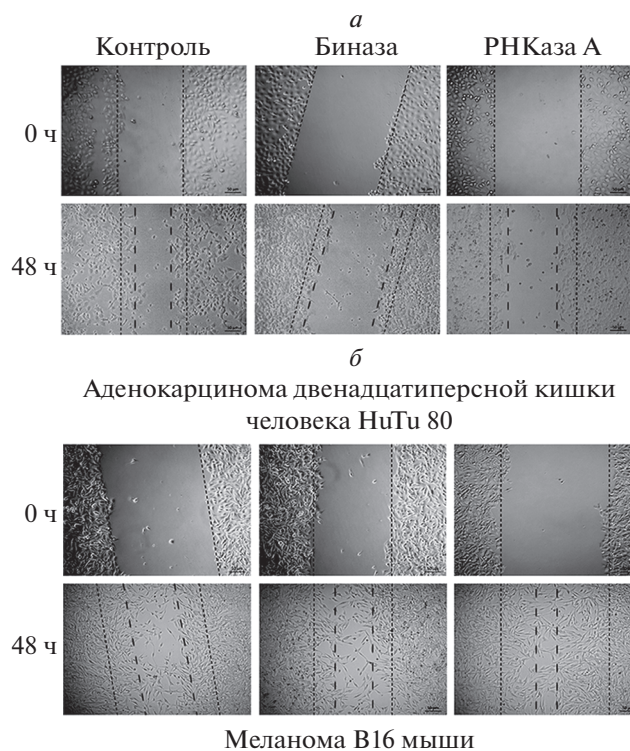


Рис. 2. Зарастание царапины в монослое клеток аденокарциномы HuTu 80 человека (а) и меланомы мыши B16 (б), культивируемых в присутствии РНКазы (10 мкг/мл) в течение 48 ч. Точками обозначены границы изначального повреждения монослоя; пунктирные линии – границы монослоя после инкубации с РНКазами. Увеличение ×400.

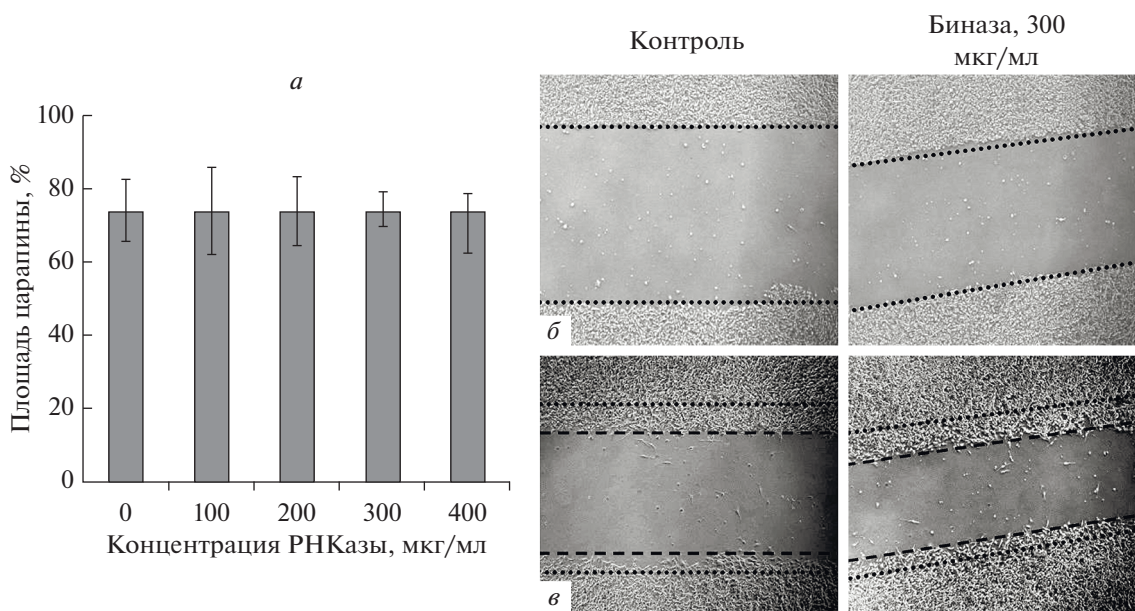


Рис. 3. Влияние биназы в высоких концентрациях на миграционную активность клеток меланомы B16 после 12 ч роста (а), и зарастание царапины с одинаковой скоростью в присутствии биназы и без нее в течение эксперимента: 0 ч (б) и 12 ч (в). За 100% принята площадь царапины сразу после нанесения. Увеличение ×400.

битор TIMP-1 взаимодействует с металлопротеиназой в области консервативного мотива, а также субстратсвязывающего участка, представленного ами-

нокислотными остатками H178, L180, A181, A183, E218, H227, P237, Y239 (PDB 3V96, рис. 4а). Это взаимодействие в основном стабилизировано во-

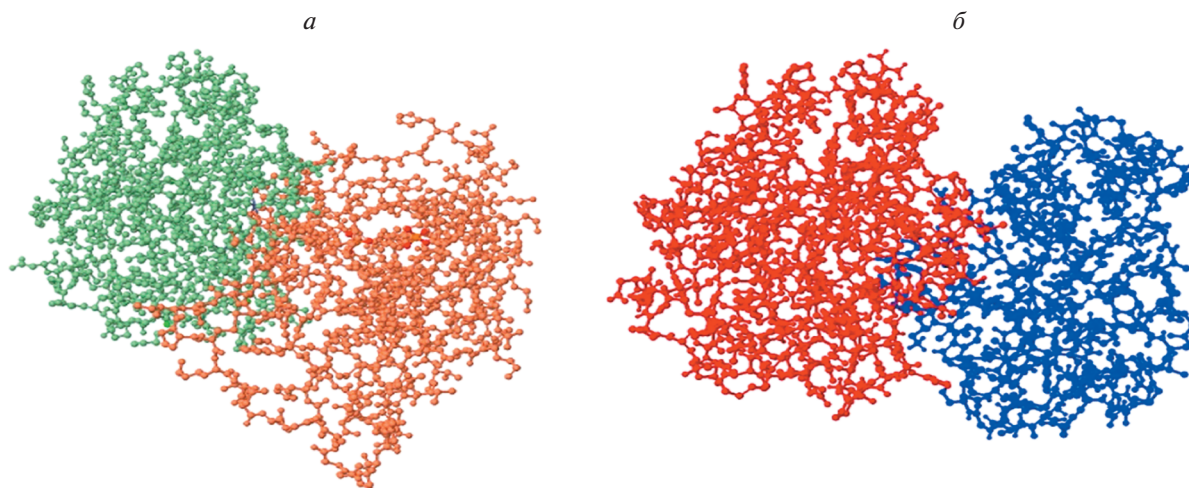


Рис. 4. Молекулярное моделирование: комплекс каталитического домена матричной металлопротеиназы-10 (MMP-10cd) с тканевым ингибитором металлопротеиназы-1 (TIMP-1) (PDB 3V96) (*a*), и модель взаимодействия каталитического домена матричной металлопротеиназы-10 (MMP-10cd, PDB 3V96B) с биназой (PDB 1G0UA) (*б*). Зеленым цветом (часть *a*, верх) показана металлопротеиназа, оранжевым (нижняя часть) — ее ингибитор (*a*), красным цветом (часть *б*, верх) представлена металлопротеиназа, синим (нижняя часть) — биназа (*б*).

дородными связями, а также солевыми мостиками. Биназа и ингибитор TIMP-1 не похожи ни по первичной, ни по третичной структуре. Однако при моделировании взаимодействия между собственно MMP-10cd и биназой установлено, что путем электростатических взаимодействий биназа потенциально может связываться с протеиназой так же, как и ее ингибитор. И в этом взаимодействии принимают участие одни и те же области белка MMP-10cd (рис. 4). Так, с консервативным мотивом протеиназы взаимодействуют аминокислотные остатки Y12, R15, Y16 биназы, а с субстрат-связывающим участком — остатки R18 и R71.

Таким образом, проведенный нами анализ подтверждает перспективность дальнейшего исследования биназы как селективного ингибитора инвазии опухолевых клеток, имеющих высокий уровень экспрессии мутантного онкогена *K-RAS* и металлопротеиназ ADAM.

Работа выполнена в рамках программы повышения конкурентоспособности Казанского федерального университета (КФУ) и поддержана грантами Российского фонда фундаментальных исследований (17-00-00059, 17-00-00060 и 17-00-00061 (КОМФИ)).

В исследовании не использованы биологические материалы, полученные от людей и животных.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Newman D.J., Cragg G.M. (2012) Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.* **75**, 311–335.
- Tsang N.Y., Chik W.I., Sze L.P., Wang M.Z., Tsang S.W., Zhang H.J. (2018) The use of naphthoquinones and furano-naphthoquinones as antiinvasive agents. *Curr. Med. Chem.* **25**, 5007–5056.
- Onoda T., Ono T., Dhar D.K., Yamanoi A., Fujii T., Nagasue N. (2004) Doxycycline inhibits cell proliferation and invasive potential: combination therapy with cyclooxygenase-2 inhibitor in human colorectal cancer cells. *J. Lab. Clin. Med.* **143**, 207–216.
- Shin Y.S., Cha H.Y., Lee B.-S., Kang S.U., Hwang H.S., Kwon H.C., Kim C.-H., Choi E.C. (2016) Anti-cancer effect of luminacin, a marine microbial extract, in head and neck squamous cell carcinoma progression via autophagic cell death. *Cancer Res. Treat.* **48**, 738–752.
- Тамаи У., Наоки К., Ёинжи Л., Банно К., Ганцев Ш., Кадзуо У. (2017) Молекулярный дизайн не содержащего углеводного компонента аналога миграцина, препятствующего миграции и инвазии клеток рака яичников. *Креативная хирургия и онкология.* **7**, 16–20.
- Ilinskaya O., Decker K., Koschinski A., Dreyer F., Repp H. (2001) *Bacillus intermedius* ribonuclease as inhibitor of cell proliferation and membrane current. *Toxicology.* **156**, 101–107.
- Mitkevich V.A., Petrushanko I.Y., Spirin P.V., Fedorova T.V., Kretova O.V., Tchurikov N.A., Prassolov V.S., Ilinskaya O.N., Makarov A.A. (2011) Sensitivity of acute myeloid leukemia Kasumi-1 cells to binase toxic action depends on the expression of *KIT* and *AML1-ETO* oncogenes. *Cell Cycle.* **10**, 4090–4097.
- Митькевич В.А., Макаров А.А., Ильинская О.Н. (2014) Клеточные мишени противоопухолевых рибонуклеаз. *Молекуляр. биология.* **48**, 214–219.
- Mironova N.L., Petrushanko I.Y., Patutina O.A., Sen'kova A.V., Simonenko O.V., Mitkevich V.A., Markov O.V., Zenkova M.A., Makarov A.A. (2013) Ribonuclease binase inhibits primary tumor growth and me-

- tastases via apoptosis induction in tumor cells. *Cell Cycle*. **12**, 2120–2131.
10. Ильинская О.Н., Зеленихин П.В., Колпаков А.И., Макаров А.А., Митькевич В.А., Прасолов В.С., Сафиуллина Д.Р. (2008) Избирательная цитотоксичность биназы в отношении фибробластов, экспрессирующих онкогены *ras* и *AML/ETO*. *Учен. Зап. Казанского ун-та. Сер. Естеств. науки*. **150**, 268–273.
 11. Кабрера Фуентес Э.А., Зеленихин П.В., Колпаков А.И., Прайсснер К., Ильинская О.Н. (2010) Сравнительная цитотоксичность биназы по отношению к опухолевым и нормальным клеткам. *Учен. Зап. Казанского ун-та. Сер. Естеств. науки*. **152**, 143–148.
 12. Зеленихин П.В., Мамедзаде К.Р., Ильинская О.Н. (2012) Цитофлуориметрическая характеристика влияния РНКаз на клетки про- и эукариот. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. **7**, 62–65.
 13. Arpino V., Brock M., Gill S.E. (2015) The role of TIMPs in regulation of extracellular matrix proteolysis. *Matrix Biol.* **44–46**, 247–254.
 14. Dudkina E., Ulyanova V., Shah Mahmud R., Khodzhaeva V., Dao L., Vershinina V., Kolpakov A., Ilinskaya O. (2016) Three-step procedure for preparation of pure *Bacillus altitudinis* ribonuclease. *FEBS Open Biol.* **19**, 24–32.
 15. Колпаков А.И., Ильинская О.Н. (1999) Оптимизация метода определения рибонуклеазной активности с использованием высокополимерной РНК. *Клиническая и лабораторная диагностика*. **5**, 14–16.
 16. Schindelin J., Rueden C.T., Hiner M.C., Eliceiri K.W. (2015) The ImageJ ecosystem: An open platform for biomedical image analysis. *Mol. Reprod. Dev.* **82**, 518–529.
 17. Kozakov D., Hall D.R., Xia B., Porter K.A., Padhorna D., Yueh C., Beglov D., Vajda S. (2017) The ClusPro web server for protein-protein docking. *Nat. Protoc.* **12**, 255–278.
 18. Ilinskaya O.N., Singh I., Dudkina E., Ulyanova V., Kayumov A., Barreto G. (2016) Direct inhibition of oncogenic KRAS by *Bacillus pumilus* ribonuclease (binase). *Biochim. Biophys. Acta—Mol. Cell Res.* **1863**, 1559–1567.
 19. Edwards D.R., Handsley M.M., Pennington C.J. (2008) The ADAM metalloproteinases. *Mol. Aspects Med.* **29**, 258–289.
 20. Isaacson K.J., Martin Jensen M., Subrahmanyam N.B., Ghandehari H. (2017) Matrix-metalloproteinases as targets for controlled delivery in cancer: an analysis of upregulation and expression. *J. Control Release.* **259**, 62–75.
 21. Zhong Y., Lu Y.T., Sun Y., Shi Z.H., Li N.G., Tang Y.P., Duan J.A. (2018) Recent opportunities in matrix metalloproteinase inhibitor drug design for cancer. *Expert Opin. Drug Discov.* **13**, 75–87.
 22. Batra J., Robinson J., Soares A.S., Fields A.P., Radisky D.C., Radisky E.S. (2012) Matrix metalloproteinase-10 (MMP-10) interaction with tissue inhibitors of metalloproteinases TIMP-1 and TIMP-2: binding studies and crystal structure. *J. Biol. Chem.* **287**, 15935–15946.

***Bacillus pumilus* RIBONUCLEASE INHIBITS MIGRATION OF HUMAN DUODENUM ADENOCARCINOMA HuTu 80 CELLS**

P. V. Zelenikhin¹, I. S. Ead Mohamed^{2,3}, A. I. Nadyrova¹, A. A. Sirotkina¹, V. V. Ulyanova¹, N. L. Mironova², V. A. Mitkevich^{4,*}, A. A. Makarov⁴, M. A. Zenkova², and O. N. Ilinskaya¹

¹*Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan Federal University, Kazan, 420008 Russia*

²*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia*

³*Novosibirsk State University, Novosibirsk, 630090 Russia*

⁴*Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia*

**e-mail: mitkevich@gmail.com*

Migration of cancer cells from the primary tumor site to nearby tissues is the starting point of the metastatic process. The invasive properties of cells are especially important for carcinomas, since tumor cells need to overcome the basement membrane and go beyond its boundaries to the underlying tissues. Substances that reduce the ability of malignant cells to invasion are promising as antimetastatic agents. In the present work, the possibility of inhibiting the ability of different cancer cell lines to migrate under the influence of the *Bacillus pumilus* ribonuclease (binase) was analyzed in the scratch-wound assay. It was established that binase at non-toxic concentration (10 µg/mL) reliably suppressed the migration ability of HuTu 80 human duodenum adenocarcinoma cells incubated with RNase for 48–72 h. The antimetastatic potential of binase is confirmed by molecular modeling data demonstrating the possibility of binase to inhibit cellular metalloproteinases that determine the migration of tumor cells.

Keywords: ribonuclease, binase, carcinoma, melanoma, invasion, RAS oncogene, ADAM metalloproteinases