

ПРИЛОЖЕНИЕ

Таблица П1. t-test для всех пар значений рис. 2, в для параметра гранулярности клеток, определяемого по SSC-H для каждой клетки, цитометрия, каждая группа сравнения – 3–19 повторов с 10 000 клеток в каждом

1% O ₂	NT	DOX	CQ	DOX+CQ
NT		4,3E-07 (****)	2,14E-03 (**)	1,58E-06 (****)
DOX			1,98E-1 (ns)	2,28E-05 (****)
CQ				2,04E-02 (*)
DOX+CQ				
21% O ₂	NT	DOX	CQ	DOX+CQ
NT		1,98E-06 (****)	1,95E-04 (***)	2,21E-04 (***)
DOX			7,78E-04 (***)	9,89E-02 (ns)
CQ				2,76E-03 (**)
DOX+CQ				

ns – статистически незначимо. Выделение ячейки голубым означает повышение значения параметра, в отличие от всех других ячеек.

Таблица П2. t-test для всех пар значений рис. 3 для значения флуоресценции LysoTracker Green на клетку по данным микроскопии (каждая группа сравнения порядка 100 клеток)/цитометрии (10 000 клеток)

1% O ₂	NT	DOX	CQ	DOX+CQ
NT		3,625e-01 (ns)/ 6,530e-01 (ns)	7,148e-10 (****)/ 3,292e-02 (*)	3,543e-30 (****)/ 3,656e-02 (*)
DOX			3,664e-11 (****)/ 3,169e-02 (*)	1,887e-25 (****)/ 3,541e-02 (*)
CQ				1,008e-21 (****)/ 4,458e-01 (ns)
DOX+CQ				
21% O ₂	NT	DOX	CQ	DOX+CQ
NT		7,248e-06 (****)/ 6,651e-03 (**)	2,698e-12 (****)/ 2,745e-09 (****)	3,405e-24 (****)/ 3,282e-05 (****)
DOX			2,044e-05 (****)/ 8,587e-01 (ns)	1,170e-14 (****)/ 3,046e-02 (*)
CQ				2,427e-03 (**)/ 5,619e-02 (ns)
DOX+CQ				

ns – статистически незначимо.

Таблица П3. t-test для всех пар значений рис. 5 для параметра активности лизосомного фермента катепсина В, определяемой как флуоресценция Magic Red-CTSB (YL2-Н канал), нормированная на SSC-Н для каждой клетки, цитометрия, каждая группа сравнения – 3–15 повторов с 10 000 клеток в каждом

21% O ₂	NT	DOX	CQ	DOX+CQ
NT		2,447e-02 (*)	9,081e-09 (****)	2,462e-06 (****)
DOX			8,561e-05 (****)	1,661e-06 (****)
CQ				3,757e-06 (****)
DOX+CQ				

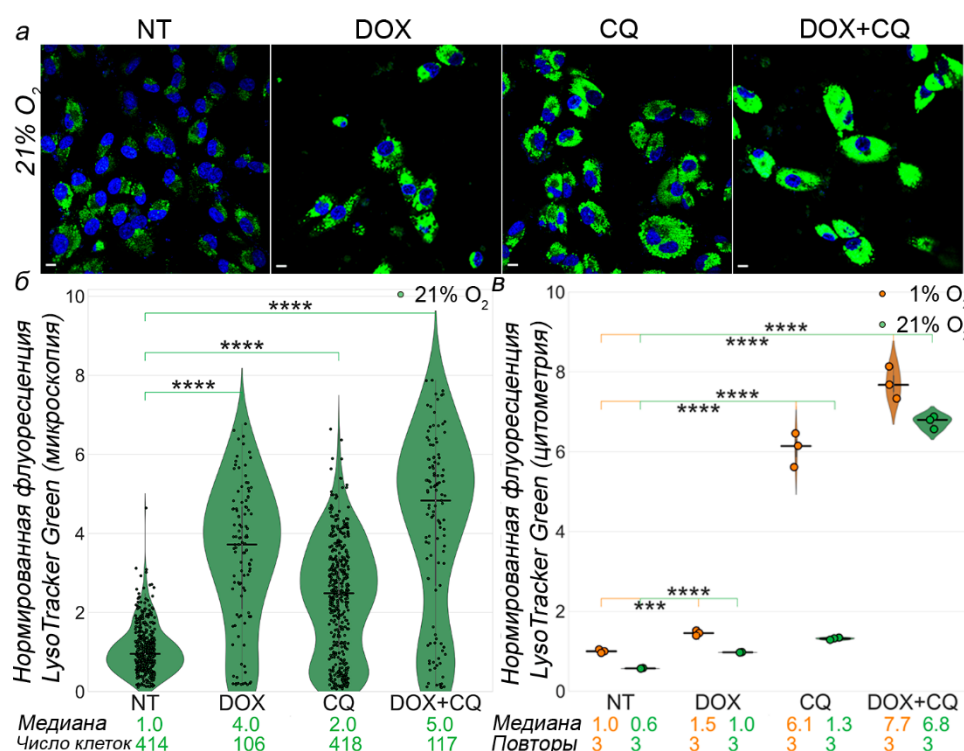


Рис. П1. Увеличение объёма лизосом клеток линии NT1080 обработкой доксорубицином и/или хлорохином в условиях гипоксии 1% O₂ и нормоксии 21% O₂.

Инкубация 72 часа с 0,2 мкМ DOX, 10 мкМ CQ или их совокупностью, NT – необработанный контроль.

а – Внешний вид при микроскопировании клеток NT1080, окрашенных красителями LysoTracker Green (зелёный, объём лизосом) и Hoechst 33342 (синий, ядра). Длина масштабной линейки 10 мкм. Нормоксия. *б* – Статистический анализ интенсивности флуоресценции LysoTracker Green для клеток по данным микроскопии для всех экспериментальных групп, 21% O₂.

в – Статистический анализ интенсивности флуоресценции LysoTracker Green по цитометрии (BL1-Н-канал) для всех экспериментальных групп для клеток NT1080 в условии гипоксии (оранжевые области) и нормоксии (зелёные области).

Легенда для *p*-значений, указанных на рисунке звёздочками: ***: 0,0001 < *p*-значение ≤ 0,001; ****: *p*-значение ≤ 0,0001.

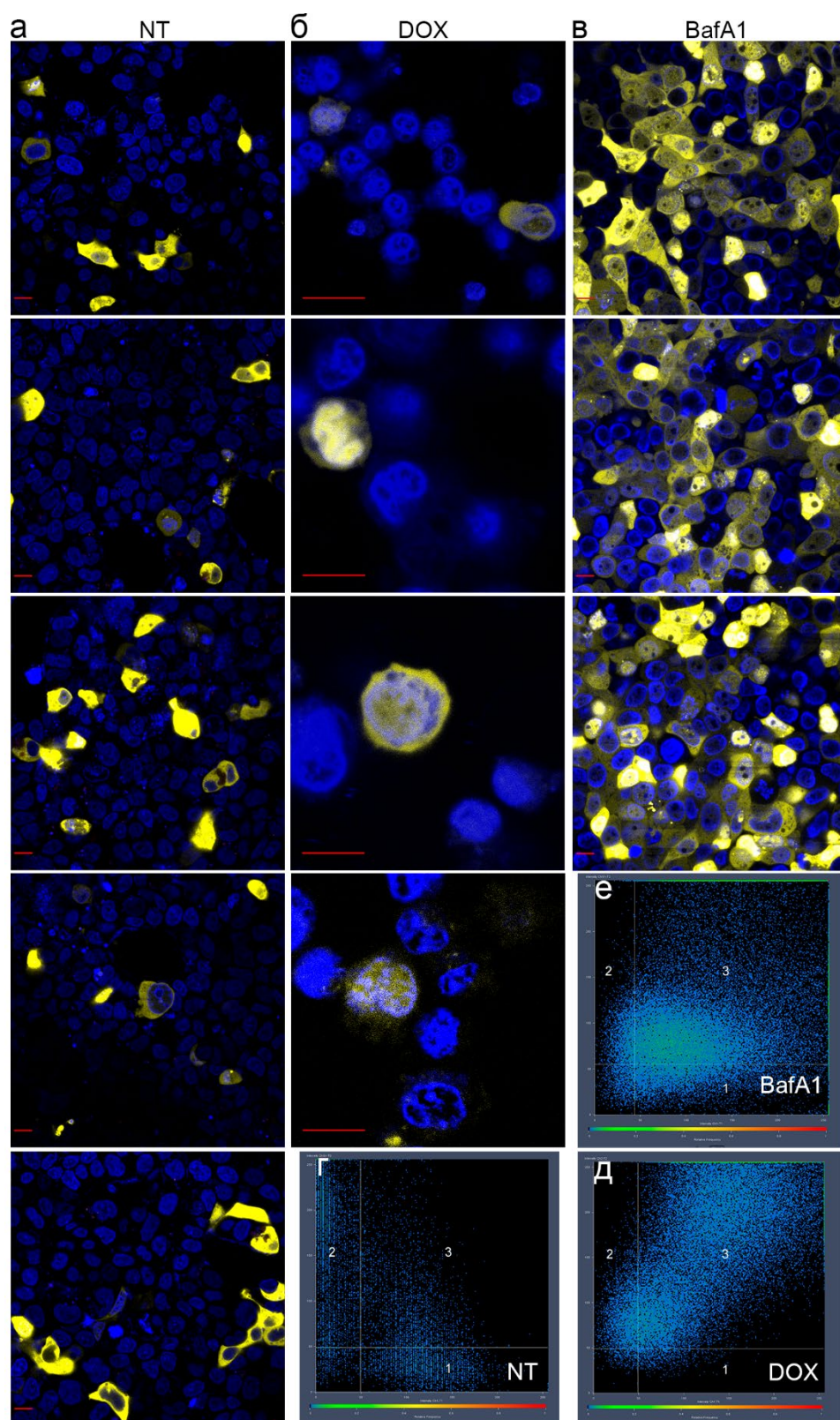


Рис. П2. Расположение ядер (краситель Hoechst 33342, отображено синим цветом) и TFEB-GFP (отображено жёлтым псевдоцветом, так что перекрывание с ядрами отображается белым) в клетках HCT116 при разных условиях:

a – без обработок, *б* – инкубация 72 часа с доксорубицином в концентрации 0,2 мкМ, *в* – инкубация 12 часов с бафиломицином A1 в концентрации 150 нМ.

Характерные графики распределения интенсивностей пикселей изображений в каналах ядер (Hoechst 33342) и TFEB-GFP для разных инкубаций:

c – без обработок – слабая ядерная локализация TFEB-GFP (мало точек в квадранте 3 на графике),

d – 0,2 мкМ доксорубицина, 72 часа – сильная ядерная локализация TFEB-GFP (много точек в квадранте 3 на графике),

e – 150 нМ BafA1 (бафиломицин A1), 12 часов – сильная ядерная локализация TFEB-GFP.

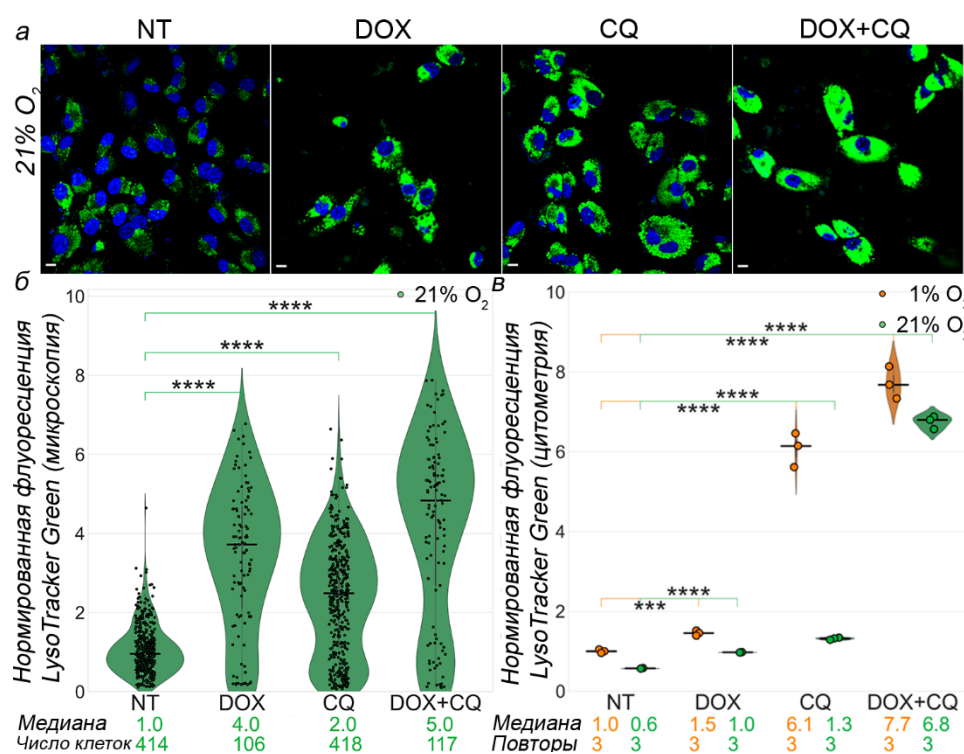


Рис. ПЗ. Активность лизосомного фермента катепсина В, измеренного по уровню красной флуоресценции субстрата Magic Red-CTSB в клетках HT1080 при воздействии доксорубицина (DOX), хлорохина (CQ) и их совокупности (DOX+CQ) в условиях нормоксии (и гипоксии (цитометрия)). Инкубация 3 дня с 0,2 мкМ DOX, 10 мкМ CQ, или их совокупностью, NT – необработанный контроль.

а – Внешний вид при микрокопировании клеток HT1080, окрашенных красителями Magic Red-CTSB (красный, активность лизосом) и Hoechst 33342 (синий, ядра). Длина масштабной линейки 10 мкм. *б* – Статистический анализ интенсивности флуоресценции Magic Red-CTSB для клеток по данным микроскопии для всех экспериментальных групп.

в – Статистический анализ интенсивности флуоресценции Magic Red-CTSB по цитометрии (YL2-H-канал цитометра) для всех экспериментальных групп для клеток HT1080 в условии гипоксии (оранжевые области) и нормоксии (зелёные области).

Легенда для *p*-значений, указанных на рисунке звёздочками: *: 0,01 < *p*-значение ≤ 0.05; ****: *p*-значение ≤ 0,0001.