

**Новая модель для оценки цитотоксичности и потенциальной  
противоопухолевой активности биологически активных соединений**

**Калинина Марина Александровна**

*Студент (специалист)*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет  
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

*E-mail: marinakalinafb@gmail.com*

При тестировании новых биологически активных соединений важной задачей является определение их цитотоксичности. Для оценки степени выживаемости клеток существуют различные тест-системы, большинство из которых основано на проведении ферментативных реакций. Такие тесты требуют добавления в систему дополнительных компонентов, таких как субстраты и буферы для ферментативных реакций, что усложняет их адаптацию для высокопроизводительного формата и не позволяет наблюдать динамику роста клеток. Однако, если использовать сами клетки как аналитический сигнал, этот недостаток можно преодолеть.

Потенциальный противоопухолевый препарат должен обладать высокой токсичностью для опухолевых клеток и быть безопасным для нормальных клеток. Поэтому хорошей моделью для оценки цитотоксичности, на наш взгляд, является сокультивация модельных опухолевых и нормальных культур клеток человека в одной лунке планшета. При таком подходе возможна оценка конкурентного роста культур, а также можно наблюдать разницу эффектов препарата на клетки различной этиологии. Для того, чтобы клетки были различимы при детекции, используется мечение культур разными флуоресцентными белками. Для регистрации сигнала от выживших клеток используется флуоресцентный сканер высокого разрешения ТУРНООН, который ранее не использовался для детекции клеток. При таком подходе оценки цитотоксичности в систему дополнительно ничего не нужно добавлять (только клетки и тестируемые соединения), можно наблюдать эффекты цитотоксичности в динамике (так как не требуется лизис клеток), а также время детекции не меняется при изменении формата планшета (при одинаковой суммарной площади лунок).

Новый метод детекции был верифицирован по известным химиотерапевтическим препаратам, таким как доксорубин и этопозид. Значения IC50 для данных препаратов сопоставимы с результатами МТТ-теста - популярного метода для оценки цитотоксичности. Для нашей модели сокультивации мы выбрали клеточные культуры, которые бы имитировали «опухоль» и «норму»: линия карциномы легкого человека (A549) и иммортализованные фибробласты легкого человека (VA13). Обе линии были мечены путем лентивирусной интеграции в геном генов флуоресцентных белков. Подобраны условия их сокультивации таким образом, чтобы не происходило вытеснение одной клеточной линии другой, но при этом количество клеток было бы достаточным для детекции сканером. Анализ изображений, полученных с помощью сканера, происходит автоматически (был написан плагин для программы ImageJ). Мы анализируем два параметра лунки планшета - относительная интенсивность и площадь лунки, занятая клетками. С помощью этих параметров была подобрана оптимальная концентрация клеток для детекции, при которой наблюдается лучшая линейность этих параметров при длительном эксперименте (сканирование производилось 5 дней подряд). Новая модель для оценки цитотоксичности уже была использована для тестирования серии новых соединений (около 20 новых препаратов).