

Поиск клеточной модели для исследования особенностей миграции стволовых опухолевых клеток.

Научный руководитель – Александрова Антонина Юрьевна

Бурова Анна Вадимовна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра клеточной биологии и гистологии, Москва, Россия

E-mail: annannm@hotmail.com

В последнее время среди клеток, образующих опухоль, выделяют особую популяцию опухолевых стволовых клеток (ОСК). Эти клетки обладают целым рядом особенностей, таких как наличие специфических маркеров, множественная лекарственная устойчивость, способность образовывать новые колонии в не очень благоприятных условиях [2]. Эти особенности важны при формировании вторичных опухолевых узлов - метастазов. Действительно, было показано, что метастазирование осуществляется во многом за счет ОСК. Одним из свойств опухолевых клеток, способствующих метастазированию, является их повышенная миграционная активность. Обладают ли ОСК какими-либо особыми характеристиками подвижности до сих пор не известно. Проблемой при исследовании миграции ОСК является то, что, как правило, в культуре опухолевых клеток количество ОСК относительно невелико и их трудно выделить. Мы поставили своей задачей пометить живые ОСК в культуре, чтобы можно было непосредственно наблюдать и анализировать их подвижность и особенности цитоскелета. Чтобы выделить в культурах стволовые клетки, мы трансфицировали в них репортерную плазмиду *Sox6*, в которой синтезируется флуоресцентный белок GFP в ответ на активацию генов стволовости *SOX2* и *Oct4* [1]. Таким образом, помечаются зеленым только те клетки, в которых эти гены активны, соответственно, они являются стволовыми. Мы проводили трансфекцию следующих клеточных линий: HT1080 - фибросаркома человека; HT29 - карцинома эпителия толстой кишки человека; MDA-MB-231 - аденокарцинома молочной железы человека. Согласно литературным данным в каждой из этих линий присутствуют ОСК. На начальном этапе работы мы проводили трансфекцию этих линий плазмидой *Sox6* и старались оценить количество клеток, окрашенных GFP, подтвердить их стволовость независимым тестом и выявить возможные различия в цитоскелете клеток, окрашенных и неокрашенных GFP. В культуре фибросаркомы HT1080 только очень малое количество клеток было окрашено зеленым. HT29 очень плохо поддаются трансфекции, но многие клетки подкрашены GFP и специфичность подкрашивания не очевидна. В культуре HT29, клетки распределяются в основном в виде мелких островков, краевые клетки островка светились GFP, тогда как клетки в центре абсолютно нет. В качестве независимого теста на стволовость мы применили анализ выбрасывания красителя Hoechst33342, но никакой разницы в окрашивании ядер у светящихся и нет клеток не обнаружили, т.е. этот тест не подтвердил стволовость окрашенных GFP клеток HT29. В культуре MDA-MB-231 наблюдали около 10% светящихся GFP клеток. Между GFP + и - отмечена большая разница в размере и распределении актинового цитоскелета. Таким образом, для дальнейшей работы мы выбрали клетки культуры MDA-MB-231.

Источники и литература

- 1) Tang et al. Flexible Reporter System for Direct Observation and Isolation of Cancer Stem Cells. // Stem Cell Reports – 2015 – V. 4 – P. 155–169

- 2) Toru Kondo. Stem cell-like cancer cells in cancer cell lines. // Cancer Biomarkers. IOS Press. – 2007 – V. 3 – P. 245–250