

Создание опухолевой клеточной линии меланомы человека, стабильно экспрессирующей люминесцентный белок ffLuc для биовизуализации

Научный руководитель – Тазетдинова Лейсан Газинуровна

Ахмет Маржан Пайызханкызы

Студент (бакалавр)

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра генетики, Казань, Россия

E-mail: mainan.kz@gmail.com

Ксенографтные опухолевые модели животных имеют важное значение как для моделирования противоопухолевой терапии, так и для исследований процессов канцерогенеза *in vivo* [2,3]. Однако использование иммунодефицитных мышей ограничены в своей информативности из-за отсутствия иммунной системы у животных, так как важное значение для роста и формирования опухоли оказывают клетки иммунной системы [4]. Целью нашей работы являлось создание ксенографтной опухолевой модели в теле иммунокомпетентной мыши линии C57BL/6 путем подкожного введения генетически модифицированных клеток меланомы человека, экспрессирующих люминесцентный белок ffLuc (M14-ffLuc)[1].

Рекомбинантный лентивирус LV-ffLuc был получен методом ко-трансфекции с использованием кальций-фосфатного метода тремя плазмидами (оболочечная, упаковочная и векторная) пакующей линии клеток НЕК 293 Т. Сбор вирусного супернатанта проводили 3 раза через каждые 12 часов. Концентрирование лентивирусных частиц проводили методом ультрацентрифугирования с ускорением 26 000 об/мин в течение 2 часов. Титр лентивируса определяли инфицированием клеток М14 раствором лентивируса в серийных разведениях (от 10^{-1} до 10^{-7}), который составил $2,8 \times 10^6$ TU/мл. Клетки М14 генетически модифицировали лентивирусом LV-ffLuc и отбирали с помощью пуромицина (1 мкг/мл) в течение 10 дней. Относительная интенсивность и кинетика сигнала люциферазы светлячка в М14-ffLuc был проанализирован с помощью системы анализа люциферазы ONE-Glo™ Luciferase Assay System (Promega, США). После добавления ONE-Glo Luciferase Assay System на клетки М14-ffLuc максимальная интенсивность люминесцентного сигнала была детектирована через 10 минут, которая сохранялась более 30 минут.

Полученные нами данные будут применены для создания ксенографтных моделей опухолей и могут способствовать дальнейшим исследованиям в отношении разработки ксенографтных моделей солидных опухолей человека и использоваться для разработки системы скрининга при тестировании новых противоопухолевых средств.

Источники и литература

- 1 Basel M. T. Developing a xenograft human tumor model in immunocompetent mice [Text] /Basel M. T., Narayanan S., Ganta C., Shreshta T. B., Marquez A., Pyle M., Hill J., Bossmann S. H., Troyer D. L. // Cancer Lett.-2018.- V. 412.- P. 256-263
- 2 Cekanova M. Animal models and therapeutic molecular targets of cancer: utility and limitations [Text] /Cekanova M., Rathore K. // Drug Des Devel Ther.- 2014.- V. 8.- P. 1911-21
- 3 Khaled Y. S. Increased levels of granulocytic myeloid-derived suppressor cells in peripheral blood and tumour tissue of pancreatic cancer patients [Text] /Khaled Y. S., Ammori B. J., Elkord E. // J Immunol Res.- 2014.- V. 2014.- P. 879897

- 4 Kelland L. R. Of mice and men: values and liabilities of the athymic nude mouse model in anticancer drug development [Text] /Kelland L. R. // Eur J Cancer.- 2004.- V. 40, № 6.- P. 827-36