

**Получение immortalized клеточных линий почки обыкновенных
игрунок для модели оценки эффективности терапевтических вакцин против
ВПЧ**

Научный руководитель – Баюрова Екатерина Олеговна

Куприянова Наталья Сергеевна

Студент (специалист)

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова,
Москва, Россия

E-mail: kupriyanovans16@gmail.com

Актуальность: На сегодняшний день для оценки эффективности терапевтических вакцин против вируса папилломы человека (ВПЧ) используются модели на основе сингенных опухолевых линий мышей, экспрессирующих гены *E6* и *E7* ВПЧ. Получение и характеристика immortalized клеточной линии обыкновенных игрунок (*Callithrix jacchus*, ОИ), экспрессирующих *E6*, *E7* HPV-16, может послужить предпосылкой к разработке модели такого типа на лабораторных приматах.

Цель: Получить и охарактеризовать immortalized клеточную линию из первичных клеток почки ОИ, экспрессирующих *E6*, *E7* HPV-16.

Материалы и методы: Первичные клетки почки были получены путем трипсинизации почки мертворожденного детеныша ОИ. Полученные клетки культивировали с использованием среды ДМЕМ/F12 (ПанЭко) и добавлением 10% FBS (HyClone), для них был определен предел удвоения популяции и время удвоения клеток. Lentiviral particles, coding for *E6*, *E7* HPV16 (pLJM-E6E7Puro), or *rttert* (*Rattus norvegicus*) (pLVT-TERT) were obtained earlier in the laboratory. Lentiviral vector, coding for *hTERT* (pGKLoxP_hTERT_TurboFP635NLS), was used for the production of lentiviral particles according to the standard protocol. Lentiviral transduction was used to obtain cell lines expressing *rttert*, *hTERT*, *E6*, *E7* HPV16, *rttert* in combination with *E6*, *E7* HPV16 or *hTERT* in combination with *E6*, *E7* HPV16. Selection of *E6*, *E7*- and *hTERT*-positive cells was performed in the presence of puromycin (0,75 µg/ml). Cell growth activity was measured by RTA relative to MCF-7 cells. Cell lines, which were able to grow for a month without signs of cellular senescence, were cloned to single cells by sequential dilution in 96-well plates.

Результаты: При трипсинизации почки мертворожденного детеныша ОИ была получена первичная клеточная культура, для которой время удвоения составляет $42,83 \pm 23,46$ часов в течение первой недели культивирования и $74,46 \pm 26,23$ на более поздних этапах. Предел удвоения популяции составлял $5 \pm 0,2$. Только последовательная трансдукция лентивирусами, кодирующими *E6*, *E7* HPV16 и *hTERT* приводит к получению клеток, стабильно культивируемых в течение более чем 4 месяцев. Для полученной культуры была подтверждена ферментативная активность *hTERT*. Методом предельного разведения были получены 7 моноклональных производных данной гетерогенной культуры, 3 из которых находятся в культуре более 2-х месяцев без признаков клеточного старения. Для полученной культуры и ее моноклональных производных будет подтверждена функциональная активность *E6*, *E7* HPV16.

Выводы: Была получена immortalized клеточная культура почки ОИ и ее моноклональные производные, для которых в дальнейшем будет оценен туморигенный потенциал в иммунодефицитных мышах.