

УДК 616–092.4

**СОЗДАНИЕ 3D КЛЕТОЧНЫХ СФЕРОИДОВ НА МИКРОСФЕРАХ
ИЗ ПОЛИ-3-ОКСИБУТИРАТА****К.А. Меньших, В.В. Воинова, А.П. Бонарцев***Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет,
Москва, Россия*

Создание новых лекарственных соединений, обладающих противоопухолевым потенциалом, требует надёжных методов тестирования в доклинических условиях. К моделям для скрининга эффективности препаратов *in vitro* относят культуры клеток опухолей человека – 2D (монослойные) системы культур клеток и 3D системы.¹

Трёхмерные системы клеточных культур – это своеобразное переходное звено между изучением рака и тестирований препаратов на клеточном уровне (в монослое) и в организме.² **Целью** данной работы являлось создание 3D клеточных сфероидов на микросферах из поли-3-оксибутирата (ПОБ). ПОБ зарекомендовал себя как перспективный биоматериал, находящий применение в самых разных областях биомедицины.³ Для получения пористых микросфер с диаметрами 50–100 и более 100 мкм использовался метод «водная фаза / масляная фаза / водная фаза» (W/O/W) с последующим вымыванием порообразователя. В качестве порообразователя был взят водный раствор карбоната аммония, поскольку он способен к термическому разложению до аммиака и углекислого газа.⁴

Выбор клеточной линии был обусловлен тенденциями частоты случаев заболевания различными видами рака головы и шеи в мире.⁵ Для получения стабильных сфероидов клетки линии НЕР-2 в суспензии совместно с пористыми микросферами из ПОБ переносили на лунки с покрытием из агарозы. В условиях постоянного перемешивания, температуры 37° и 5 % содержания CO₂ клетки культивировались совместно с микросферами в течение 14 суток со сменой среды каждые 2 дня. Динамика клеточного роста и деления в сфероидах отслеживалась посредством МТТ-анализа, измерением концентрации белка по Брэдфорду, а также оценивалась визуально с помощью конфокальной и сканирующей электронной микроскопии.

Согласно полученным данным, рост сфероидов достигал пика по истечении 7 суток культивирования с последующим падением числа живых клеток как в контроле (сфероиды из клеток), так и в опыте (сфероиды из клеток с микросферами). При этом при использовании микросфер диаметром менее 100 мкм наблюдалась более активная пролиферация клеток, чем в контроле и в сфероидах с микросферами более 100 мкм. Исследование роста клеток при помощи сканирующей электронной микроскопии показало лучшее прикрепление и агрегацию клеток с микросферами меньшего диаметра (см. Рисунок 1).

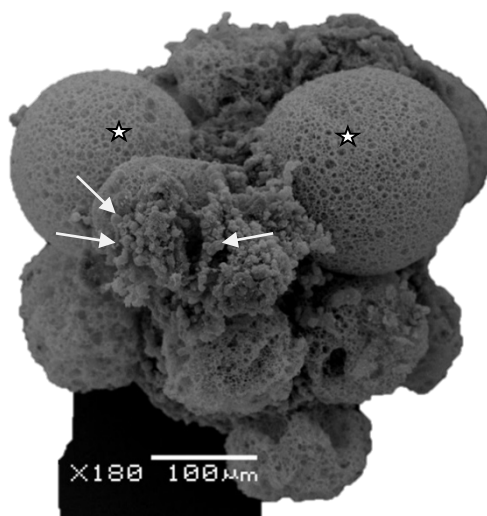


Рисунок 1 – Клетки (стрелки), агрегированные с микросферами из ПОБ (звёздочки). Сканирующая электронная микроскопия

На основании полученных результатов можно заключить, что подобный подход к созданию трёхмерных клеточных конструкций из опухолевых клеток с использованием ПОБ является перспективным и может быть в дальнейшем использован для получения моделей для тестирования противоопухолевых препаратов. Более глубокое понимание процессов, происходящих при культивировании подобных трёхмерных комплексных систем, может быть достигнуто посредством анализа экспрессии различных транскрипционных факторов, а также в ходе масштабирования процесса до культивирования в большем объёме с постоянным током питательной среды.

Работа получила финансовую поддержку РФФИ мк № 18–29–09099.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галимова, Э.С. & Галагудза, М.М. Двухмерные и трехмерные модели культур клеток опухолей in vitro: преимущества и недостатки. Бюллетень сибирской медицины 17, 188–196 (2018).
2. Melissaridou, S. et al. The effect of 2D and 3D cell cultures on treatment response, EMT profile and stem cell features in head and neck cancer. Cancer Cell Int. 19, 16 (2019).
3. Reddy, C.S.K., Ghai, R. & Kalia, V.C. Polyhydroxyalkanoates : an overview. 87, 137–146 (2003).
4. Бонарцев, А.П., Воинова, В.В., Шайтан, К.В. Пористые микросферы из поли 3 оксиалканоата для контролируемого высвобождения положительно заряженных белков и способ их получения. Патент РФ № 2692768 от 27.06.2019 г.
5. Feldman, R. et al. Molecular profiling of head and neck squamous cell carcinoma. 1625–1638 (2016).