

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).

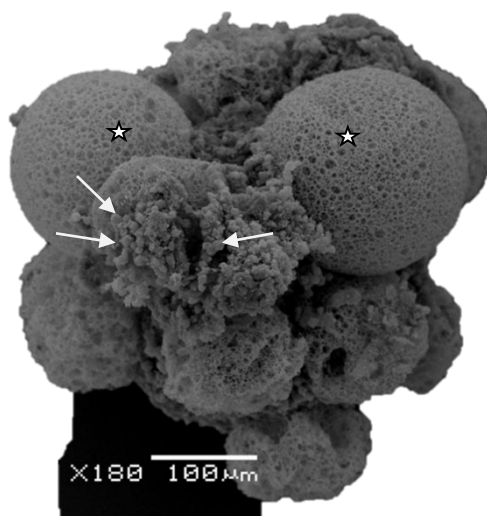


Рисунок 1 – Клетки (стрелки), агрегированные с микросферами из ПОБ (звёздочки). Сканирующая электронная микроскопия

На основании полученных результатов можно заключить, что подобный подход к созданию трёхмерных клеточных конструкций из опухолевых клеток с использованием ПОО 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).

УДК 633.367.2:631.526.3

ТЕХНОЛОГИЯ ХРАНЕНИЯ МАКСИМАЛЬНОГО КОЛИЧЕСТВА ГЕНОВ ВИДА РАСТЕНИЙ В МИНИМАЛЬНОМ КОЛИЧЕСТВЕ КОМПОНЕНТОВ ЕГО БИОЛОГИЧЕСКОГО БАНКА ГЕНОВ

Н.С. Купцов, Е.Г. Попов

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь

Современное сельхозпроизводство в связи с глобальными изменениями климата Земли и тем фактом, что в Европе этот процесс идёт более высокими темпами, чем в среднем по миру, поставило перед селекцией нашего времени в качестве стратегической задачи создание у сельскохозяйственных культур интенсивных сортов различного типа развития (яровых, факультативных, озимых, многолетних), обладающих высоким потенциалом продуктивности и адаптивности, приспособленных к технологиям возделывания в разных системах земледелия (классической, No-Till, Strip-Till, Mix-Crop, Rot-Mix). Однако время, которое отводится селекционерам на решение сегодняшних задач и ближайшего будущего, значительно короче, чем это было в прошлом. Дальнейшее успешное продвижение в области практической селекции всё более зависит от оперативного вовлечения в работу генофонда, хранящегося в мировых коллекциях. За последние десятилетия объёмы этих коллекций резко возросли, что затрудняет работу с ними, а именно, инвентаризацию, хранение, воспроизведение, выдачу потребителю, использование потребителем и др. [1–5]. Поэтому весьма актуально создание таких технологий, которые позволяют существенно сокращать объёмы коллекций, сохраняя при этом количество генов, подлежащих хранению.

С целью значительного сокращения объёмов коллекций, несущих подлежащие хранению гены, а также для удобства и ускорения работ по созданию необходимого для селекции генотипического разнообразия, нами были созданы для 4-х видов люпина (узколистного [*Lupinus angustifolius* L.], жёлтого [*L. luteus* L.], белого [*L. albus* L.], тарви [*L. mutabilis* Sweet]) биологические банки генов (ББГ), состоящие из 14 компонентов каждый [5–7]. При этом теоретическим базисом ББГ стал заложенный в молекуле ДНК общеизвестный принцип комплементарности полинуклеотидов, используемый природой для хранения и воспроизводства генетической информации разных организмов. Этот принцип с успехом применён нами в ББГ видов люпина для хранения и воспроизводства контролируемых генов вида в минимальном количестве компонентов. Комплементарные друг другу по многим генам 14 компонентов ББГ по генетической функции являются своего рода аналогами полинуклеотидов ДНК.

Гибридизация компонентов между собой (– ++×++ –) в результате неаллельного взаимодействия генов (–+ ±) и их рекомбинации позволяет значительно увеличить в потомстве гибридов генотипическое разнообразие по тому или иному элементарному признакам. Так, наряду с выщеплением родительских генотипов (– ++ и ++ –) происходит реверсия блока диких генов (+++) и образование новых блоков мутантных генов (– –).