

Сфероиды как трехмерная клеточная модель опухоли для исследования эффективности HER2-специфичного рекомбинантного иммунотоксина

Научный руководитель – Балалаева Ирина Владимировна

Пужихина Алена Дмитриевна

Студент (магистр)

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

E-mail: puzhikhina.alena@gmail.com

Большинство исследований *in vitro* в области экспериментальной онкологии проводится на монослойных культурах клеток. Не является исключением и таргетная терапия - метод лечения, при котором воздействие ведется непосредственно на опухолевые клетки с причинением наименьшего вреда нормальным клеткам. Перспективными агентами таргетной терапии являются иммунотоксины - белковые молекулы, включающие в себя направляющую часть, которая связывается с молекулой-мишенью на поверхности злокачественной клетки, и токсическую, которая убивает клетку. Однако монослойная культура не отражает реального строения опухоли в живом организме, при котором проникновение терапевтических агентов, особенно крупных по размеру белков, может быть ограничено, и, тем самым, снижена их эффективность. Альтернативным методом исследований *in vitro* может служить использование трехмерных клеточных моделей, в частности сфероидов опухолевых клеток.

В данной работе были получены сфероиды клеток аденокарциномы молочной железы человека SKBR-3 с гиперэкспрессией онкомаркера HER2. Было проведено сравнение разных методов получения сфероидов. Наиболее подходящим при этом признано использование культурального пластика со сверхнизкой адсорбцией. Была оценена эффективность рекомбинантного HER2-специфичного иммунотоксина 4D5scFv-PE40 на сфероидах и монослое клеток SKBR-3. Направляющий модуль в структуре 4D5scFv-PE40 представлен scFv-фрагментом антитела 4D5. В качестве токсического модуля выступает фрагмент псевдомонадного экзотоксина А. Анализ эффективности иммунотоксина был проведен на основе анализа кривых роста сфероидов и МТТ-теста. Также была визуализировано проникновение иммунотоксина в сфероид методом конфокальной микроскопии. Для этого иммунотоксин был конъюгирован с флуоресцентным красителем DyLight650.

В ходе эксперимента было показано значительное замедление роста сфероидов в присутствии иммунотоксина, а также изменение их морфологии. Также было выяснено, что сфероиды обладают значительной резистентностью к действию иммунотоксина по сравнению с монослоем клеток. Концентрация, ингибирующая рост клеток на 50% относительно необработанного контроля, для сфероидов оказалась на несколько порядков выше, чем для монослойной культуры клеток. Причиной такого различия может являться ограниченная глубина проникновения 4D5scFv-PE40 внутрь сфероида, которая составила 80-100 мкм (при диаметре сфероида 400-500 мкм). Аналогично, структура опухолевой ткани и наличие плотных межклеточных контактов ограничивают эффективность действия противоопухолевых препаратов *in vivo*. Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод о том, что сфероиды более предпочтительны в исследованиях *in vitro*, так как позволяют более реалистично оценить действующие концентрации терапевтических агентов.

Автор выражает глубокую признательность своему научному руководителю к.б.н., доц. Балалаевой И.В.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ (проект 14.Z50.31.0022).