

Анализ пролиферативной активности и устойчивости к цисплатину клеток аденокарциномы протоков молочной железы линии MCF-7 выделенных из ксенотрансплантата

Харисова Чулпан Булатовна

Студент (специалист)

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

E-mail: harisovachulpan@gmail.com

В противоопухолевой терапии аденокарциномы молочной железы применяется препарат первой линии - цисплатин (цис-диамминдихлороплатина (II)). На сегодняшний день для изучения действия лекарственных средств широко используются ксенографтные опухолевые модели животных, с помощью которых возможно воспроизвести физиологические и анатомические особенности человеческого организма. Таким образом, целью нашей исследовательской работы является анализ пролиферативной активности и устойчивости к цисплатину клеток аденокарциномы протоков молочной железы линии MCF-7 выделенных из ксенотрансплантата.

В данной работе использовали нативные клетки линии MCF-7 и клетки линии MCF-7, выделенные из ксенотрансплантата, которые были культивированы в одинаковых условиях с использованием питательной среды DMEM при 37 °C во влажной атмосфере с 5% содержанием CO₂.

На первом этапе исследования провели анализ пролиферативной активности клеток с помощью прибора xCELLigence RTCA DP (Agilent, США) в режиме реального времени при следующих параметрах: 300 шагов по 15 минут в течение 74 часов. На специальный 16-луночный планшет с расположенными на дне электродами высевали клетки с расчетом, что на каждую лунку требуется 6 тысяч клеток. По прошествии 24 часов от начала эксперимента вносили цисплатин с концентрацией 20 мкг/мл.

Затем для оценки пролиферативной активности/жизнеспособности клеток был проведен MTS-тест. Для этого в 96-луночный планшет высевали клетки в 6 биологических повторностях с конечной концентрацией 10 тысяч клеток на лунку. После 48 часов культивирования вносили цисплатин в концентрации 2 мкг/мл. Измерения проводили с помощью микропланшетного ридера Infinite 200 Pro (Tecan, Швейцария).

Далее методом иммуноцитохимии были окрашены клетки для выявления экспрессии маркера пролиферации Ki-67 с использованием красителя DAPI. Клетки каждой линии сеяли на 24-луночный планшет в 4 биологических повторностях с конечной концентрацией 20 тысяч клеток на лунку. Результаты анализировали в лаборатории лазерной конфокальной микроскопии МДЦ АМ КФУ на приборе LSM 780 (Carl Zeiss, Германия).

В результате проведенного исследования было отмечено, что нативные клетки линии MCF-7 обладали более высокой пролиферативной активностью по сравнению с клетками MCF-7, выделенными из ксенотрансплантата. Также полученные данные MTS-теста показали, что влияние на пролиферативную активность/жизнеспособность клеток цисплатин оказал на нативные клетки линии MCF-7 по сравнению с клетками MCF-7, выделенными из ксенотрансплантата. При окрашивании клеток методом иммуноцитохимии было обозначено, что между нативными клетками линии MCF-7 и клетками MCF-7, выделенными из ксенотрансплантата не выявлено значительных различий в экспрессии маркера пролиферации Ki-67.

Благодаря исследованиям, направленным на выявление различий и изменений свойств опухолевых клеток после их нахождения в организме животного, возможно наиболее точно изучить механизм цитотоксического действия лекарственных средств.