

Линия клеток рака молочной железы, экспрессирующая CD44-GFP, для мониторинга дедифференцировки

А.А. Сёмчина*, А.Ю. Рыжкова, А.Г. Першина

Центр биологических исследований и биоинженерии ЦНИЛ СибГМУ, Томск, Россия

* sonjochek@mail.ru

Ключевые слова: CRISPR/Cas9; рак молочной железы; CD44; биосенсор

Breast cancer cell line expressing CD44-GFP for dedifferentiation monitoring

A.A. Syomchina*, A.Yu. Ryzhkova, A.G. Pershina

Center of Bioscience and Bioengineering of CSRL SSMU, Tomsk, Russia

* sonjochek@mail.ru

Key words: CRISPR/Cas9; breast cancer; CD44; biosensor

Образование вторичных опухолей (метастазов) – основная причина высокой летальности при многих типах раковых заболеваний [1]. Для инициации роста метастаза раковая клетка должна приобрести свойства стволовой клетки в результате дедифференцировки [1, 2]. Одним из маркеров такого перехода является экспрессия поверхностного рецептора CD44 [3].

Целью исследования было создать линию клеток рака молочной железы человека T47D, транскрибирующих ген *CD44* в виде единой мРНК с зеленым флуоресцентным белком (*eGFP*), но транслирующих белки CD44 и eGFP по отдельности.

Для получения генетически модифицированной линии была использована система CRISPR/Cas9. Донорная плаزمид была сконструирована С.П. Медведевым (ИЦИГ СО РАН, Новосибирск, Россия) и содержала последовательности, кодирующие eGFP и T2A-пептид, а также ген устойчивости к антибиотику *Neo^r/Kan^r*; sgRNA были подобраны к 18 экзону гена *CD44*. Эффективность ко-трансфекции клеток T47D, согласно данным проточной цитофлуориметрии, составила $4,30\% \pm 0,06\%$. После отбора клонов, устойчивых к генетическому лечению, успешное встраивание трансгена подтвердили с помощью ПЦР.

Полученная генетически модифицированная клеточная линия может быть использована при разработке противоопухолевых лекарств, предназначенных для лечения метастатической болезни за счет подавления процесса дедифференцировки раковых клеток [4]. Особенно актуально применение данной линии клеток в системе «орган-на-чипе», так как процесс детектирования и подсчета флуоресцентных клеток может быть автоматизирован с применением машинного обучения для интеграции искусственного интеллекта в систему.

Финансирование: Исследование выполнено в рамках программы стратегического академического лидерства «Приоритет 2030».

Список литературы

1. Gerstberger S., Jiang Q., Ganesh K. Metastasis. *Cell*. 2023;186(8):1564-1579
2. Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discov*. 2022;12(1):31-46
3. Xu H., Niu M., Yuan X. et al. CD44 as a tumor biomarker and therapeutic target. *Exp Hematol Oncol*. 2020;9(1):36
4. Nevskaya K.V., Pershina A.G., Hmelevskaya E.S. et al. Prevention of Metastasis by Suppression of Stemness Genes Using a Combination of microRNAs. *J Med Chem*. 2024;67(7):5591-5602