

Сравнительный анализ методик получения децеллюляризованных органных матриксов мыши для задач экспериментальной онкологии

Научный руководитель – Балалаева Ирина Владимировна

Поспелов Антон Джонович

Студент (магистр)

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

E-mail: eso103163@gmail.com

Получение бесклеточных органных матриксов, или децеллюляризация, представляет собой обработку натуральных тканей или органов с удалением всех клеточных элементов и максимальным сохранением состава и структуры внеклеточного матрикса. Такие децеллюляризованные (ДЦЛ) матриксы могут быть использованы в экспериментальной онкологии для исследования роли неклеточного компонента стромы в развитии опухоли и метастазировании.

Целью нашей работы являлось экспериментальное сравнение методик получения ДЦЛ матриксов органов мыши и их последующего заселения опухолевыми клетками. В качестве объектов были использованы следующие органы: почки, печень, лёгкие, селезёнка, яичники, кожа.

В рамках работы было апробировано три метода химической децеллюляризации. В первом случае органы животных последовательно выдерживались в 0,5% растворе Тритона X-100, 0,5% растворе SDS (додецилсульфат натрия), 1% растворе SDC (дезоксиколат натрия) и в 0,075% растворе SDS. Вторая методика заключалась в последовательной инкубации органов в 1% растворе Тритона X-100, dH₂O, 1% растворе трипсина-Версена, растворе аprotинина, 0,5% растворе SDS и 0,5% растворе Тритона X-100. Последняя из апробированных методик заключалась в инкубации органов в трис-ацетатном буфере (pH=8), 3% растворе Тритона X-100, растворе РНКзы А и ДНКзы 1.

Для оценки пригодности полученных матриксов они были подвергнуты процедуре репопуляции клетками карциномы молочной железы SKBR-3. Для этого матриксы, отмытые от растворителей питательной средой, фиксировались в лунке 6-луночного планшета с помощью агарозы. После недели инкубации каждый матрикс был подвергнут стандартной гистологической проводке с последующей окраской гематоксилин-эозином и акридиновым оранжевым с целью оценки сохранности архитектоники матрикса, а также для определения эффективности рецеллюляризации.

По результатам работы следует отметить, что ни одна из апробированных методик не является универсальной. Получение ДЦЛ матриксов для разных органов требует разных протоколов обработки, что может объясняться различиями в структуре и химическом составе внеклеточного матрикса. Так, первая методика лучше подходит для кожи и лёгких, вторая для почек и селезёнки, третья для лёгких и яичников. Была показана возможность успешной репопуляции полученных матриксов опухолевыми клетками. Мы предполагаем, что в дальнейшем оптимизированные методики получения ДЦЛ матриксов могут быть использованы при исследовании закономерностей процесса метастазирования определённых типов опухолей и исследования локальных факторов резистентности опухолей к терапевтическому воздействию.

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

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 17-74-10227) и Российского фонда фундаментальных исследований (проект 17-00-00119).