

**Получение immortalized клеточных линий почки обыкновенных  
игрунок для модели оценки эффективности терапевтических вакцин против  
ВПЧ**

**Научный руководитель – Баюрова Екатерина Олеговна**

**Куприянова Наталья Сергеевна**

*Студент (специалист)*

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова,  
Москва, Россия

*E-mail: kupriyanovans16@gmail.com*

**Актуальность:** На сегодняшний день для оценки эффективности терапевтических вакцин против вируса папилломы человека (ВПЧ) используются модели на основе сингенных опухолевых линий мышей, экспрессирующих гены *E6* и *E7* ВПЧ. Получение и характеристика immortalized клеточной линии обыкновенных игрунок (*Callithrix jacchus*, ОИ), экспрессирующих *E6*, *E7* HPV-16, может послужить предпосылкой к разработке модели такого типа на лабораторных приматах.

**Цель:** Получить и охарактеризовать immortalized клеточную линию из первичных клеток почки ОИ, экспрессирующих *E6*, *E7* HPV-16.

**Материалы и методы:** Первичные клетки почки были получены путем трипсинизации почки мертворожденного детеныша ОИ. Полученные клетки культивировали с использованием среды ДМЕМ/F12 (ПанЭко) и добавлением 10% FBS (HyClone), для них был определен предел удвоения популяции и время удвоения клеток. Lentiviral particles, coding for *E6*, *E7* HPV16 (pLJM-E6E7Puro), или *rttert* (*Rattus norvegicus*) (pLVT-TERT) были получены ранее в лаборатории. Lentiviral vector, coding for *hTERT* (pGKLoxP\_hTERT\_TurboFP635NLS), был использован для получения lentiviral particles по стандартному протоколу. Путем lentiviral transduction были получены варианты культур клеток, кодирующих гены *rttert*, *hTERT*, *E6,E7* HPV16, *rttert* в сочетании с *E6,E7* HPV16 или *hTERT* в сочетании с *E6,E7* HPV16. Селекцию *E6,E7*- и *hTERT*-положительных клеток проводили в присутствии пуромицина (0,75 мкг/мл). Температурную активность измеряли методом RTA относительно клеток MCF-7. Клеточные культуры, культивируемые в течение месяца без признаков клеточного старения, были клонированы до единичных клеток путем последовательного разведения в 96-луночной планшете.

**Результаты:** При трипсинизации почки мертворожденного детеныша ОИ была получена первичная клеточная культура, для которой время удвоения составляет  $42,83 \pm 23,46$  часов в течение первой недели культивирования и  $74,46 \pm 26,23$  на более поздних этапах. Предел удвоения популяции составлял  $5 \pm 0,2$ . Только последовательная трансдукция лентивирусами, кодирующими *E6*, *E7* HPV16 и *hTERT* приводит к получению клеток, стабильно культивируемых в течение более чем 4 месяцев. Для полученной культуры была подтверждена ферментативная активность *hTERT*. Методом предельного разведения были получены 7 моноклональных производных данной гетерогенной культуры, 3 из которых находятся в культуре более 2-х месяцев без признаков клеточного старения. Для полученной культуры и ее моноклональных производных будет подтверждена функциональная активность *E6*, *E7* HPV16.

**Выводы:** Была получена immortalized клеточная культура почки ОИ и ее моноклональные производные, для которых в дальнейшем будет оценен туморигенный потенциал в иммунодефицитных мышах.