Южно-Российский онкологический журнал 2022, Т. 3, № 3, С. 15-23
https://doi.org/10.37748/2686-9039-2022-3-3-2
BY 4.0

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

ПРИМЕНЕНИЕ СИЛИКОНОВОГО ПОКРЫТИЯ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ ПРОЦЕССА ПОЛУЧЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ СФЕРОИДОВ МЕТОДОМ ВИСЯЧЕЙ КАПЛИ

С. Ю. Филиппова✉, А. О. Ситковская, С. В. Тимофеева, Т. В. Шамова, И. В. Межевова, Н. В. Гненная, И. А. Новикова

НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
✉ filsv@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Исследовать влияние покрытия из СИЭЛ 159–330 на скорость и характер образования клеточных скоплений в висячей капле в сочетании с применением метилцеллюлозы (МЦ) и коллагена в качестве агентов, улучшающих агрегацию клеток.

Материалы и методы. Клетки культуры рака молочной железы ВТ20 в количестве 10^4 помещали в каплях объёмом 20 мкл на крышку полистироловой чашки Петри с покрытием из силиконового эластомера СИЭЛ 159–330 (АО «ГНИИ-ХТЭОС», г. Москва, Россия) или без покрытия. В исследовании тестировали по три концентрации МЦ (0,1 %, 0,25 % и 0,4 %) и коллагена (150 мкг/мл, 300 мкг/мл и 600 мкг/мл). Скорость формирования клеточных конгломератов оценивали через изменение их площади спустя 4, 24, 48 и 72 часа культивирования.

Результаты. Применение покрытия из СИЭЛ 159–330 позволило получить сфероиды таких же размеров, что и добавление 0,4 % МЦ на временном промежутке 72 часа. Силиконовое покрытие дополнительно уменьшило размеры клеточных сфероидов в среде с 0,1 % МЦ во всех временных точках, однако с ростом концентрации МЦ данный эффект исчезал. Кроме того, использование СИЭЛ 159–330 уменьшило связь размеров клеточных сфероидов с концентрацией МЦ, что позволяет рассматривать применение данного покрытия, как альтернативу МЦ или способ сократить её концентрацию. В опыте с добавлением в среду культивирования коллагена размеры клеточных конгломератов, образующихся на силиконовом покрытии, были достоверно меньше, чем на пластике без покрытия во всех вариантах опыта и временных точках. При этом эффект был более выраженным для концентрации коллагена 600 мкг/мл. Применение покрытия из СИЭЛ 159–330, кроме того, сократило вариативность размеров и формы образующихся клеточных конгломератов.

Заключение. Ускоренная агрегация клеток и волокон внеклеточного матрикса в висячих каплях, а также сокращение вариативности в размерах и форме образующихся клеточных скоплений на СИЭЛ 159–330 позволяет сократить время проведения экспериментов и материальные затраты, как в опытах с добавлением веществ, ускоряющих формирование сфероидов (МЦ и коллаген), так и в их отсутствие.

Ключевые слова:
трёхмерная клеточная культура, клеточный сфероид, метод висячей капли, метилцеллюлоза, коллаген, силиконовый эластомер

Для корреспонденции:
Филиппова Светлана Юрьевна – научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.
Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63
E-mail: filsv@yandex.ru
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4558-5896
SPIN: 9586-2785, AuthorID: 878784
ResearcherID: AAH-4408-2020
Scopus Author ID: 57189618843

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось.
Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:
Филиппова С. Ю., Ситковская А. О., Тимофеева С. В., Шамова Т. В., Межевова И. В., Гненная Н. В., Новикова И. А. Применение силиконового покрытия для оптимизации процесса получения клеточных сфероидов методом висячей капли. Южно-Российский онкологический журнал. 2022; 3(3): 15-23. https://doi.org/10.37748/2686-9039-2022-3-3-2

Статья поступила в редакцию 21.03.2022; одобрена после рецензирования 14.07.2022; принята к публикации 02.09.2022.

© Филиппова С. Ю., Ситковская А. О., Тимофеева С. В., Шамова Т. В., Межевова И. В., Гненная Н. В., Новикова И. А., 2022

South Russian Journal of Cancer 2022, Vol.3, No. 3, P. 15-24
https://doi.org/10.37748/2686-9039-2022-3-3-2
ORIGINAL ARTICLE

APPLICATION OF SILICONE COATING TO OPTIMIZE THE PROCESS OF OBTAINING CELLULAR SPHEROIDS BY THE HANGING DROP METHOD

S. Yu. Filippova✉, A. O. Sitkovskaya, S. V. Timofeeva, T. V. Shamova, I. V. Mezhevova, N. V. Gnennaya, I. A. Novikova

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation
✉ filsv@yandex.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. To study the effect of SIEL 159–330 coating on the cell clusters formation rate in a hanging drop method in combination with the use of methylcellulose (MC) and collagen as cell aggregation improving agents.
Materials and methods. BT20 breast cancer cells were cultured in drops of 20 µL (10^4 cells per drop) on the lid of a polystyrene Petri dish coated with SIEL 159–330 silicone elastomer (GNIIKHTEOS, Moscow, Russia) or without coating. The study tested three concentrations of MC (0.1 %, 0.25 % and 0.4 %) and collagen (150 µg/ml, 300 µg/ml and 600 µg/ml). The rate of formation of cell conglomerates was assessed by evaluating their area after 4, 24, 48, and 72 hours of cultivation.
Results. The use of SIEL 159–330 coating made it possible to obtain spheroids of the same size as the addition of 0.4 % MC over a time interval of 72 hours. The silicone coating additionally reduced the size of cell spheroids in the medium with 0.1 % MC at all time points; however, this effect disappeared with increasing concentration of MC. In addition, the use of SIEL 159–330 reduced the relationship between the size of cellular spheroids and the concentration of MC, which allows us to consider the use of this coating as an alternative to MC or a way to reduce its concentration. In the experiment with the addition of collagen to the culture medium, the sizes of cell conglomerates formed on the silicone coating were significantly smaller than on uncoated plastic in all variants of the experiment and time points. The effect was more pronounced for a collagen concentration of 600 µg/ml. The use of SIEL 159–330 coating, in addition, reduced the variability in the size and shape of the resulting cell conglomerates.
Conclusion. Accelerated aggregation of cells and fibers of the extracellular matrix in hanging drops, as well as a reduction in the variability in the size and shape of the resulting cell clusters on SIEL 159–330, allows us to reduce the time of experiments and material costs, as in experiments with the addition of substances that accelerate the formation of spheroids (MC and collagen), as well as in their absence.

Keywords:
3D cell culture, cell spheroid, hanging drop method, methylcellulose, collagen, silicone elastomer

For correspondence:
Svetlana Yu. Filippova – research fellow at the laboratory of cell technologies, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation.
Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation
E-mail: filsv@yandex.ru
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4558-5896
SPIN: 9586-2785, AuthorID: 878784
ResearcherID: AAH-4408-2020
Scopus Author ID: 57189618843

Funding: this work was not funded.
Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:
Filippova S. Yu., Sitkovskaya A. O., Timofeeva S. V., Shamova T. V., Mezhevova I. V., Gnennaya N. V., Novikova I. A. Application of silicone coating to optimize the process of obtaining cellular spheroids by the hanging drop method. South Russian Journal of Cancer. 2022; 3(3): 15-23. (In Russ.). https://doi.org/10.37748/2686-9039-2022-3-3-2

The article was submitted 21.03.2022; approved after reviewing 14.07.2022; accepted for publication 02.09.2022.

ВВЕДЕНИЕ

Высокопроизводительные методы скрининга лекарственных препаратов традиционно опираются на двумерные клеточные культуры, выращиваемые на пластике в лунках многолуночных планшетов. В последнее время тенденция смещается в сторону трехмерного скрининга лекарств, особенно в терапии рака, из-за уникальных характеристик, предоставляемых этими платформами для культивирования. Известно, что культивирование клеток рака в двумерных культурах приводит к изменению их фенотипа и потере свойств, которыми эти клетки обладают в естественных условиях в организме больных, в частности, к потере экспрессии молекул ключевых сигнальных путей [1]. Тем не менее, фенотип опухолевых клеток способен восстанавливаться в трёхмерных культурах благодаря усилению адгезии и сигнальных взаимодействий между клетками и внеклеточным матриксом, снижению скорости пролиферации до соответствующей физиологической скорости роста, формированию ограниченных нелинейных метаболических градиентов, соответствующих естественной среде роста опухолевых клеток и другим факторам [2].

Одним из распространенных видов трёхмерной культуры клеток являются клеточные сфероиды. На настоящий момент существует множество методов получения сфероидов, из которых наиболее доступным считается метод «висячей капли», не требующий специального оборудования или расходных материалов [3]. Суть данного метода заключается в том, что клетки помещают во взвешенную каплю среды, и в результате действия силы тяжести и мениска, возникающего на границе раздела воздух–жидкость, клетки локализуются на дне висячей капли [4]. Одним из слабых мест культуры сфероидов, получаемых методом «висячей капли», является вариативность морфологии и структуры получаемых клеточных конгломератов, что снижает точность воспроизведения естественных профилей метаболических градиентов и затрудняет сравнение эффективности лекарств. Улучшению воспроизводимости компактных круглых сфероидов способствует введение добавок, ускоряющих агрегацию клеток. В настоящее время применяются как биологические, так и синтетические добавки, в основе действия которых лежит способность к сшиванию клеток друг с другом, стимулирование клеточной адгезии или модификация реологических свойств среды для ускорения седиментации клеток в нижней части капли. В качестве сшивающих агентов обычно применяют компоненты внеклеточного матрикса, такие как коллаген, фибронектин или препарат базальной мембраны, образуемой культурой клеток мышиной саркомы – Matrigel® [5]. В качестве добавок, изменяющих реологические свойства среды, чаще всего используют разные производные целлюлозы, в частности, метилцеллюлозу (МЦ) [6].

К недостаткам МЦ и коллагена можно отнести возможное влияние на взаимодействие клеток друг с другом и другими компонентами среды. Так, коллаген является активным участником клеточной сигнализации [7], поэтому его присутствие может изменить поведение клеток, которые в естественных условиях взаимодействуют с внеклеточным матриксом другого химического состава, как, например, клетки опухолей мозга [8]. Метилцеллюлоза, по общему представлению является инертным агентом, не вступающим во взаимодействие с клетками, однако из-за большого количества координационных связей с другими молекулами среды МЦ может приводить к непредсказуемому изменению их свойств [9].

В связи с имеющимися недостатками ускоряющих агрегацию клеток добавок исследователи обращают внимание на модификацию поверхности и придание ей гидрофобных свойств, что способствует созданию более высокой кривизны поверхности капли, приводящей к ускоренной агрегации клеток в её нижней части. Для этих целей чаще всего используют лабораторную плёнку Parafilm® [10; 11] и покрытие из полидиметилсилоксана (ПДМС) [12] – одной из разновидностей силикона. Ранее мы показали, что покрытие из биологически инертного силиконового эластомера СИЭЛ 159–330, производимого для медицинских целей в АО «ГНИИХТЭОС» (Москва, Россия) [13] после модификации режима отверждения для работы с культуральным пластиком не обладает цитотоксическими свойствами и не уступает плёнке Parafilm® по способности ускорять образование клеточных сфероидов [14]. В настоящей работе мы продолжили изучение возможностей этого силиконового покрытия в контексте усовершенствования протокола получения сфероидов методом висячей капли.

Цель исследования: исследовать влияние покрытия из СИЭЛ 159–330 на скорость и характер образования клеточных скоплений в висячей капле в сочетании с применением метилцеллюлозы и коллагена

в качестве агентов, улучшающих агрегацию клеток.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клетки культуры рака молочной железы BT20 выращивали в среде DMEM (Gibco, США) с добавлением 10 % фетальной сыворотки коров (HyClone, США) без добавления антибиотиков. Сфероиды из клеток культуры BT20 получали методом висячей капли, а именно, путём нанесения на внутреннюю поверхность крышки чашки Петри капель среды культивирования с клетками с последующим переворачиванием и накрыванием нижней части чашки, в которую вносили фосфатный буфер для создания влажной камеры и предотвращения, тем самым, слишком быстрого высыхания капель. Объём наносимых капель составлял 20 мкл, в каждой капле находилось по 10^4 клеток культуры BT20. В исследовании тестировали покрытие культурального пластика (полистирола) силиконовым эластомером СИЭЛ 159–330, отверждённом при температуре 60 °C в течение 18 часов, в сочетании с добавлением в среду культивирования метилцеллюлозы в 3х концентрациях (0,1 %, 0,25 % и 0,4 %), а также коллагена в 3х концентрациях (150 мкг/мл, 300 мкг/мл и 600 мкг/мл). Всего на каждый вариант опыта и контроля было заложено по 35 повторов. Чашки Петри с нанесёнными каплями выдерживали в CO_2-инкубаторе при температуре 37 °C и содержании CO_2 5,0 % без смены среды на протяжении 72 часов и производили фотофиксацию образующихся клеточных конгломератов через 4, 24, 48 и 72 часа при помощи инвертированного микроскопа Axio Vert. A1 (Carl Zeiss Microscopy, Германия). На полученных изображениях производили измерение площади образующихся конгломератов. Данные приведены как среднее значение ±95 % доверительный интервал для среднего значения.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Применение покрытия из СИЭЛ 159–330 само по себе привело к сокращению размеров образуемых клеточных конгломератов, что хорошо видно на графиках в образцах без МЦ (рис. 1 А, Б) Полученный результат соответствует ранее опубликованным нами данным [14] и подтверждается данными статистического анализа (табл. 1). Добавление же метилцеллюлозы дополнительно сократило размеры сфероидов на обеих тестируемых поверхностях, что также согласуется с данными литературы [6; 15].

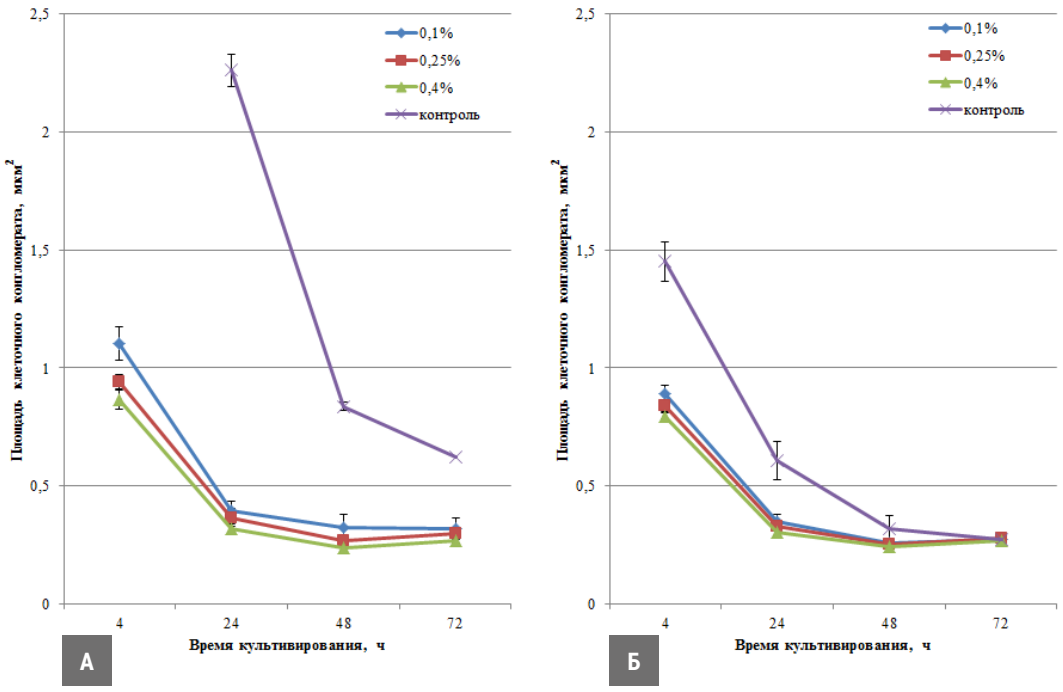

Рис. 1. Размер клеточных конгломератов при добавлении различных концентраций метилцеллюлозы. А – полистирол без покрытия. Б – покрытие из СИЭЛ 159-330. Среднее ± 95 % доверительный интервал.

Тем не менее, спустя 72 часа культивирования на покрытии из силикона разница между контролем и средой с добавлением 0,4 % МЦ становилась статистически не значимой (t = 0,68, $t_{крит}$ = 1,995, df = 68, α = 0,05), следовательно, на этом временном промежутке СИЭЛ 159–330 может быть заменой МЦ.

На пластике без покрытия и без добавления МЦ вплоть до 72 часов культивирования не наблюдалось достижения минимального размера и стабилизации размеров сфероида (рис. 1А, контроль). Применение же покрытия из СИЭЛ 159–330 сократило время формирования компактного сфероида до 48 часов (рис. 1Б, контроль), а дополнительное введение МЦ ускорило стабилизацию размеров сфероидов до 24 ч. При этом, добавление покрытия из СИЭЛ 159–330 не оказало влияния на конечный размер сфероидов – после 72 часов культивирования не наблюдалось статистически значимой разницы в значениях площади сфероидов между двумя покрытиями (табл. 1).

Полученные нами данные также свидетельствуют в пользу того, что силиконовое покрытие вносит существенный вклад в ускорение формирования сфероидов при низких концентрациях МЦ. Об этом можно судить по разнице между средними значениями площади сфероидов, образуемых на пластике без покрытия и на силиконовом покрытии спустя 4 часа культивирования (t = 6,53) и спустя 48 часов культивирования (t = 2,32) при концентрации МЦ 0,1 %. В других временных точках значение критерия Стьюдента хоть и было близко к критическому значению ($t_{крит}$ = 1,995, df = 68), тем не менее, не превысило его (табл. 1). Для концентраций МЦ 0,25 % и 0,4 % достоверно значимые различия в средних размерах сфероидов наблюдались только спустя 4 часа культивирования ($t_{0,25\,\%}$ = 2,48, $t_{0,4\,\%}$ = 3,09), с резким уменьшением значения критерия Стьюдента в последующие временные точки. Сокращение сроков формирования сфероидов в методе висячей капли позволило бы раньше перейти к манипуляциям с ними – переносу, замене среды, внесению дополнительных компонентов и т.п.

На графиках видно, что на пластике без покрытия размер сфероида отчётливо коррелирует с концентрацией МЦ – чем больше концентрация, тем меньше размеры сфероидов в каждой временной точке (рис. 1А). При этом разница являлась статистически

Таблица 1. Значение t критерия Стьюдента для попарного сравнения средних значений площади сфероидов, образуемых на покрытии из СИЭЛ 159-330 и пластике без покрытия

Среда культивирования	Время культивирования, часы			
	4	24	48	72
Контроль	n/a	**71,03**	**11,4**	**31,18**
МЦ 0,1 %	**6,53**	1,91	**2,32**	1,98
МЦ 0,25 %	**2,48**	1,87	0,75	1,86
МЦ 0,4 %	**3,09**	1,56	0,66	0,37
Коллаген 150 мкг/мл	**6,46**	**10,55**	**10,41**	**9,05**
Коллаген 300 мкг/мл	**6,0**	**12,57**	**3,15**	**3,02**
Коллаген 600 мкг/мл	**4,17**	**13,58**	**8,31**	**5,1**

Примечание: полужирным шрифтом выделены значения критерия t превышающие критическое значение для принятого в исследовании уровня значимости α = 0,05 ($t_{крит}$ = 1,995, df = 68).

Таблица 2. Значения F критерия Фишера при дисперсионном анализе средних значений площади сфероидов, образуемых при трёх концентрациях метилцеллюлозы для каждой временной точки

Вариант покрытия	Время культивирования, часы			
	4	24	48	72
Полистирол без покрытия	112,76	26,09	29,8	14,29
СИЭЛ 159-330	67,86	26,94	3,71	8,12

достоверной, так как значения критерия Фишера для всех вариантов превышали критическое значение ($F_{крит}$ = 3,087, k_1 = 2, k_2 = 102, α = 0,05) с плавным понижением к 72 часам (табл. 2). На покрытии из СИЭЛ 159–330 разница между вариантами с различной концентрацией МЦ сокращается, но также остаётся достоверно значимой.

Наблюдаемая закономерность соответствует известным из литературы данным [15]. Данные наблюдения позволяют сделать вывод о том, что применение покрытия из СИЭЛ 159–330 может способствовать уменьшению концентрации МЦ для коротких экспозиций и полному отказу от МЦ при культивировании 72 и более часов в тех случаях, когда МЦ может помешать проведению эксперимента.

Помимо ускорения формирования сфероидов на ранних этапах эксперимента, покрытие из СИЭЛ 159–330 оказывало заметное влияние и на форму образуемых клеточных конгломератов в опыте с МЦ. Так, через 72 часа культивирования клеточные сфероиды, полученные на СИЭЛ 159–330, имели более ровный контур, что особенно заметно в контрольных образцах (рис. 2). Ровные контуры говорят о равномерном формировании сфероида и, как следствие, о его однородной структуре. Однородная структура сфероидов, в свою очередь, является залогом меньшего разброса данных получаемых на таких клеточных моделях при тестировании различных физических и химических воздействий.

В опыте с добавлением в среду культивирования коллагена размеры клеточных конгломератов, образующихся на силиконовом покрытии, были достоверно меньше, чем на пластике без покрытия во всех вариантах опыта и временных точках (табл. 1). По сравнению с контролем добавление коллагена привело к формированию конгломератов, размер которых прямо зависел от концентрации коллагена (рис. 3А, Б). В первую очередь наблюдаемый эффект связан с тем, что образующиеся волокна внеклеточного матрикса сами являются материалом конгломерата, и, следовательно, напрямую определяют его объем. В ещё большей степени, концентрация коллагена определяет наблюдаемую площадь конгломератов, так как волокна собира-

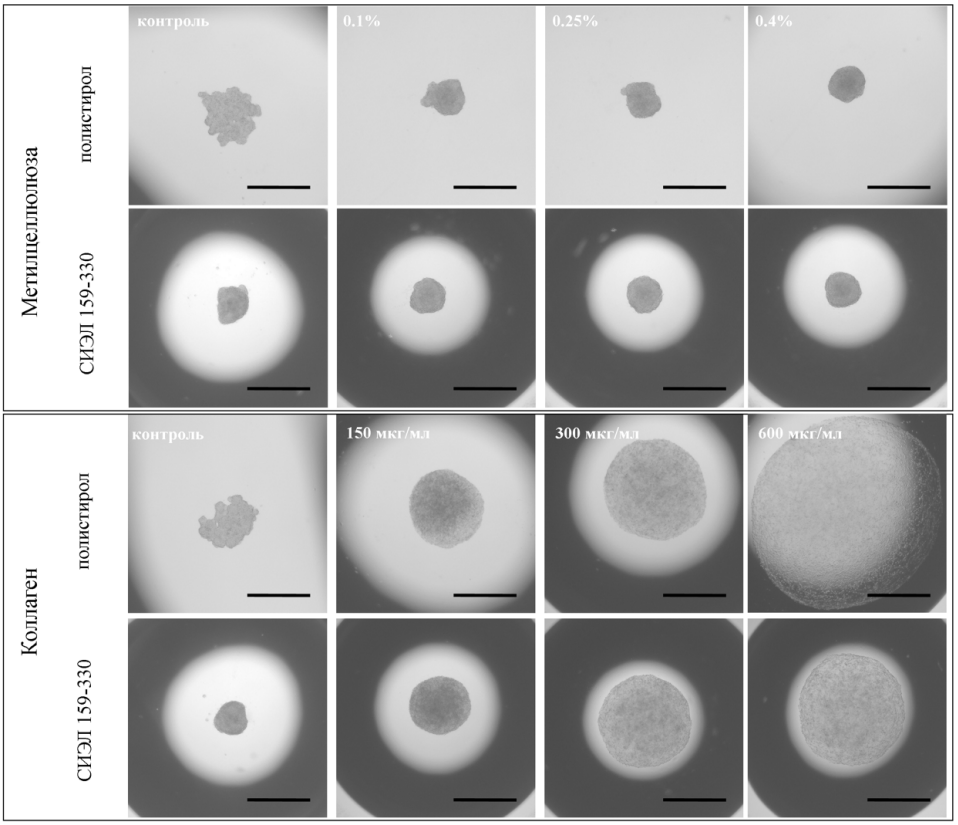

Рис. 2. Вид клеточных сфероидов, полученных с добавлением в среду метилцеллюлозы или коллагена через 72 часа культивирования на покрытии из СИЭЛ 159-330 и полистироле без покрытия. Увеличение ×20. Размерная шкала равна 1000 мкм.

ются по поверхности капли и образуемое скопление в данном случае является диском, а не шаром.

В отличие от опыта с МЦ добавление силиконового покрытия привело к существенному сокращению размера клеточных скоплений во всех временных точках и всех образцах с добавлением коллагена. Обращает на себя внимание также изменение закономерности формирования клеточных скоплений при применении покрытия из СИЭЛ 159–330. Так, в образцах на пластике без покрытия размер и концентрация связаны линейно, о чём говорит увеличение размеров диска пропорционально увеличению количества коллагена, что ярче всего видно спустя 72 часа культивирования (рис. 3А). Вместе с тем, при культивировании на силиконовом покрытии разрыв между 300 мкг/мл и 600мкг/мл существенно сократился, при практически неизменной разнице между 150 мкг/мл и 300 мкг/мл (рис. 3Б). Такое поведение клеточных конгломератов говорит, скорее всего, об ускоренном формировании конгломератов в ранние часы после закладки эксперимента, которое позволило образоваться более компактному скоплению до завершения полимеризации коллагена при прочих равных условиях. Об этом свидетельствует и большая оптическая плотность образуемых скоплений на покрытии СИЭЛ 159–330 по сравнению с пластиком без покрытия при одинаковых концентрациях коллагена (рис. 2).

Одним из недостатков коллагена, наблюдаемым в нашем эксперименте, является длительная стабилизация размеров сфероидов. Не зависимо от концентрации коллагена площадь агрегатов, формирующихся на пластике без покрытия, продолжает сокращаться в промежутке между 48 и 72 часами культивирования (рис. 3А), что увеличивает сроки проведения экспериментов с такими 3-х мерными клеточными моделями. Однако применение силиконового покрытия привело к сокращению сроков стабилизации размеров агрегатов из клеток и волокон внеклеточного матрикса до 48 часов не зависимо от концентрации коллагена (рис. 3Б).

Обращает на себя внимание также резкое уменьшение вариации в размерах клеточных конгломератов при использовании покрытия из СИЭЛ 159–330 для всех временных точек. Так, стандартное отклонение на пластике без покрытия составило в среднем 0,9 по сравнению с 0,18 на СИЭЛ 159–330 во всех вариантах опыта с добавлением коллагена и временных точках. Как и в случае с равномерной поверхностью и структурой сфе-

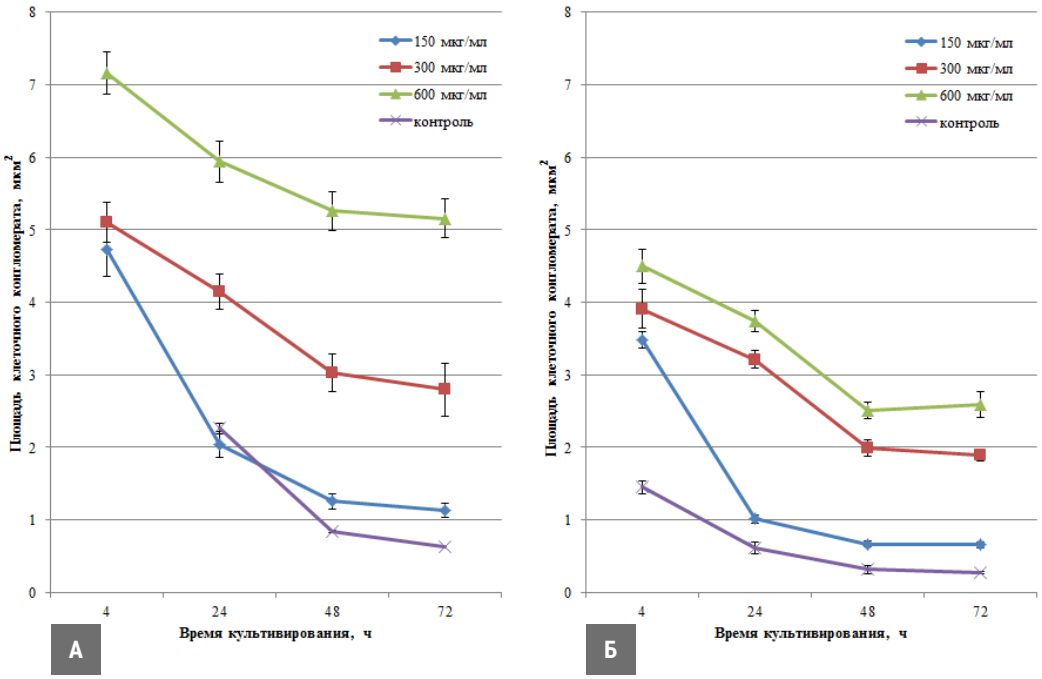

Рис. 3. Размер клеточных конгломератов при добавлении различных концентраций коллагена. А – полистирол без покрытия. Б – покрытие из СИЭЛ 159-330. Среднее ± 95 % доверительный интервал.

роидов, уменьшенная вариативность в размерах 3-х мерных клеточных моделей позволяет сократить разброс экспериментальных данных в последующих исследованиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение покрытия из силиконового эластомера СИЭЛ 159–330 позволяет улучшить практику получения клеточных сфероидов методом висячей капли. Ускоренная агрегация клеток и волокон внеклеточного матрикса, которую мы наблюдаем в первые часы культивирования капель на СИЭЛ 159–330, позволяет сократить время проведения экспериментов, как с добавлением веществ, ускоряющих формирование сфероидов (МЦ и коллаген), так и в их отсутствие. Кроме того, тестируемое силиконовое покрытие позволяет сократить и материальные затраты на проведение исследований, в которых применяется коллаген, за счёт сокращения вариативности в размерах образуемых клеточных конгломератов.

Список источников

1. Кит О. И., Шатова Ю. С., Новикова И. А., Владимирова Л. Ю., Ульянова Е. П., Комова Е. А. и др. Экспрессия P53 и BCL2 при различных подтипах рака молочной железы. Фундаментальные исследования. 2014;(10-1):85–88. Доступно по: https://fundamental-research.ru/ru/article/view?id=35219, Дата обращения: 16.03.2022.
2. Тимофеева С. В., Шамова Т. В., Ситковская А. О. 3D-биопринтинг микроокружения опухоли: последние достижения. Журнал общей биологии. 2021;82(5):389–400. https://doi.org/10.31857/S0044459621050067
3. Liu D, Chen S, Win Naing M. A review of manufacturing capabilities of cell spheroid generation technologies and future development. Biotechnol Bioeng. 2021 Feb;118(2):542–554. https://doi.org/10.1002/bit.27620
4. Kelm JM, Timmins NE, Brown CJ, Fussenegger M, Nielsen LK. Method for generation of homogeneous multicellular tumor spheroids applicable to a wide variety of cell types. Biotechnol Bioeng. 2003 Jul 20;83(2):173–180. https://doi.org/10.1002/bit.10655
5. Ivascu A, Kubbies M. Diversity of cell-mediated adhesions in breast cancer spheroids. Int J Oncol. 2007 Dec;31(6):1403–1413. https://doi.org/10.3892/ijo.31.6.1403
6. Leung BM, Lesher-Perez SC, Matsuoka T, Moraes C, Takayama S. Media additives to promote spheroid circularity and compactness in hanging drop platform. Biomater Sci. 2015 Feb;3(2):336–344. https://doi.org/10.1039/c4bm00319e
7. Huang H, Wright S, Zhang J, Brekken RA. Getting a grip on adhesion: Cadherin switching and collagen signaling. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res. 2019 Nov;1866(11):118472. https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2019.04.002
8. Шамова Т. В., Ситковская А. О., Росторгуев Э. Е., Кузнецова Н. С., Кавицкий С. Э. Получение первичных клеточных линий глиальных опухолей. Пермский медицинский журнал. 2020;37(5):79–89. https://doi.org/10.17816/pmj37579-89
9. Dalir Abdolahinia E, Jafari B, Parvizpour S, Barar J, Nadri S, Omidi Y. Role of cellulose family in fibril organization of collagen for forming 3D cancer spheroids: In vitro and in silico approach. Bioimpacts. 2021;11(2):111–117. https://doi.org/10.34172/bi.2021.18
10. Oliveira MB, Neto AI, Correia CR, Rial-Hermida MI, Alvarez-Lorenzo C, Mano JF. Superhydrophobic chips for cell spheroids high-throughput generation and drug screening. ACS Appl Mater Interfaces. 2014 Jun 25;6(12):9488–9495. https://doi.org/10.1021/am5018607
11. Fu JJ, Lv XH, Wang LX, He X, Li Y, Yu L, et al. Cutting and Bonding Parafilm® to Fast Prototyping Flexible Hanging Drop Chips for 3D Spheroid Cultures. Cell Mol Bioeng. 2021 Apr;14(2):187–199. https://doi.org/10.1007/s12195-020-00660-x
12. Kuo CT, Wang JY, Lin YF, Wo AM, Chen BPC, Lee H. Three-dimensional spheroid culture targeting versatile tissue bioassays using a PDMS-based hanging drop array. Sci Rep. 2017 Jun 29;7(1):4363. https://doi.org/10.1038/s41598-017-04718-1
13. Нанушьян С. Р. Кремнийорганические материалы ускоренной вулканизации: история создания и развития направления. Химическая промышленность сегодня. 2015;(11):21–26.
14. Филиппова С. Ю., Ситковская А. О., Ващенко Л. Н., Кечеджиева Э. Э., Дашкова И. Р., Аушева Т. В. и др. Применение покрытия из силикона для получения клеточных сфероидов методом висячей капли. Журнал медико-биологических исследований. 2022;10(1):44–51. https://doi.org/10.37482/2687-1491-Z089
15. Ware MJ, Colbert K, Keshishian V, Ho J, Corr SJ, Curley SA, et al. Generation of Homogenous Three-Dimensional Pancreatic Cancer Cell Spheroids Using an Improved Hanging Drop Technique. Tissue Eng Part C Methods. 2016 Apr;22(4):312–321. https://doi.org/10.1089/ten.TEC.2015.0280

Информация об авторах:

Филиппова Светлана Юрьевна ✉ – научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4558-5896, SPIN: 9586-2785, AuthorID: 878784, ResearcherID: AAH-4408-2020, Scopus Author ID: 57189618843

Ситковская Анастасия Олеговна – к.б.н., заведующая лабораторией клеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6035-1756, SPIN: 1659-6976, AuthorID: 791081, ResearcherID: E-7496-2018, Scopus Author ID: 56381527400

Тимофеева Софья Владимировна – научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5945-5961, SPIN: 5362-1915, AuthorID: 1064599, ResearcherID: AAH-4834-2020, Scopus Author ID: 57243356500

Шамова Татьяна Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4555-8556, SPIN: 5426-1873, AuthorID: 1051985, ResearcherID: AAR-3198-2021, Scopus Author ID: 57221303597

Межевова Ирина Валентиновна – младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7902-7278, SPIN: 3367-1741, AuthorID: 1011695, ResearcherID: AAI-1860-2019

Гненная Надежда Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. https://orcid.org/0000-0002-3691-3317, SPIN: 9244-2318, AuthorID: 900758, ResearcherID: V-5582-2018, Scopus Author ID: 57214806863

Новикова Инна Арнольдовна – к.м.н., заместитель генерального директора по науке, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. https://orcid.org/0000-0002-6496-9641, SPIN: 4810-2424, AuthorID: 726229, ResearcherID: E-7710-2018, Scopus Author ID: 57202252773

Вклад авторов:

Филиппова С. Ю. – концепция исследования;
Ситковская А. О. – итоговые выводы;
Тимофеева С. В. – написание исходного текста;
Шамова Т. В. – доработка текста;
Межевова И. В. – проведение экспериментов;
Гненная Н. В. – проведение экспериментов;
Новикова И. А. – научное руководство.
Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.