

## Клеточная модель стенки тонкого кишечника человека на основе генетически модифицированных клеток линии Caco-2

Научный руководитель – Русанов Александр Леонидович

Лузгина Екатерина Дмитриевна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия  
E-mail: [ngluzgina@gmail.com](mailto:ngluzgina@gmail.com)

В связи со сложностями моделирования целиакии у многих лабораторных животных актуальна разработка клеточных моделей заболевания [3,5].

Цель исследования: разработать клеточную модель тонкого кишечника человека, позволяющую *in vitro* исследовать основные звенья патогенеза целиакии, в частности, оценить вклад в её развитие различных продуктов неполного гидролиза глютена.

В качестве модельной выбрана клеточная линия Caco-2, дифференцированные клетки которой хорошо воспроизводят основные структурно-функциональные характеристики энтероцитов тонкого кишечника человека [4]. Для трансдукции клеток использовали лентивирусную репортёрную конструкцию, содержащую регуляторные элементы для транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B и гена, кодирующего зелёный флуоресцентный белок [1]. В качестве контрольного вещества, способного стимулировать экспрессию NF- $\kappa$ B в клетках применяли TNF- $\alpha$  (Sigma), в концентрациях от 1 до 100 нг/мл. Для моделирования патологических изменений клеток кишечника, характерных для целиакии, был выбран токсичный глиадиновый пептид p31-43 [2].

Было установлено дозозависимое (по TNF- $\alpha$ ) увеличение интенсивности флуоресценции трансдуцированных клеток, что подтвердило возможность их использования для количественной оценки активности транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B. Установлено дозозависимое увеличение флуоресценции трансдуцированных клеток при добавлении в среду пептида p31-43. Детектировать достоверное увеличение флуоресценции клеток, в сравнении с базовой, удалось при добавлении пептида в концентрации 5 мкг/мл и выше. Максимальный уровень флуоресценции наблюдался при воздействии пептида в концентрации 50 мкг/мл и выше (в 3,2 раза превысил уровень фоновой флуоресценции).

Разработанная клеточная модель может быть использована при моделировании целиакии и позволяет детектировать раннее токсическое действие продуктов неполного гидролиза глютена на энтероциты человека *in vitro*. Преимуществом данного подхода является возможность непрерывного прижизненного наблюдения за клетками.

### Источники и литература

- 1) Русанов А.Л., Лузгина Е.Д., Вахрушев И.В. и соавт. Клеточная модель стенки тонкого кишечника человека на основе генетически модифицированных клеток линии Caco-2 // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2018. № 3. С. 201-204.
- 2) Barone M.V., Nanayakkara M., Paolella G. et al. Gliadin peptide P31-43 localises to endocytic vesicles and interferes with their maturation // PLoS One. 2010 Ю Vol. 5. № 8. e12246.
- 3) Barone, M. V., Zanzi, D., Maglio et al. Gliadin-mediated proliferation and innate immune activation in celiac disease are due to alterations in vesicular trafficking // PloS One. 2011. №6(2). e17039.

- 4) Fossati, L., Dechaume, R., Hardillier et al. Use of simulated intestinal fluid for Caco-2 permeability assay of lipophilic drugs. *International Journal of Pharmaceutics* // 2008. № 360(1-2). P148–155.
- 5) Iacomino G, Fierro O, D'Auria S et al. Structural analysis and Caco-2 cell permeability of the celiac-toxic A-gliadin peptide 31-55 // *J Agric Food Chem.* 2013. № 61(5). P1088-1096.