

S.4 Tóth Gábor DE-ÁOK

DE OEC Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

ERBB2-T SZABÁLYOZHATÓAN KIFEJEZŐ SEJTVONAL, MINT TRASTUZUMAB TARGET STABILITÁSÁNAK JELLEMZÉSE

Bevezetés: Az SADR sejtvonal az NIH-3T3 fibroblaszt anyasejtvonalból tetraciklin negatív szabályozása alatt álló (tet-off) ErbB2 gén transzfektálásával keletkezett. A sejtvonal ErbB2 expressziója tetraciklin kezelés hatására megszűnik. A trastuzumab olyan, tumor terápiában alkalmazott ErbB2 célpontú humanizált monoklonális antitest, mely az ErbB2 leszabályozását fokozza.

Anyagok és módszerek: Kísérleteinkben azt vizsgáltuk, hogy milyen az SADR sejtek rövid- (5 perc) és hosszútávú (3 nap) trastuzumab érzékenysége a sejtprolifерáció, sejtciklus, ErbB2 expresszió és foszforiláció, apoptózis ráta valamint sejtmorfológia szempontjából. 100 microg/ml trastuzumab hatását ErbB2-t kifejező, és ErbB2-megvonásos (tetraciklin kezelt) sejteken hasonlítottuk össze. Mivel korábbi kísérleteinkben változó proliferációgátlást tapasztaltunk, azt is megvizsgáltuk, hogy miként változnak a fenti paraméterek az SADR sejtvonal tenyésztése során: a 3. 10. és 20. passzálást követően végeztük méréseinket. A proliferációt MTT alapú esszével és impedancia alapú xCELLigence rendszerrel vizsgáltuk, az áramlási citometriás vizsgálatokhoz ErbB2 és pErbB2 specifikus immunfluoreszcenciás, ill. propidium jodid jelöléseket alkalmaztunk.

Eredmények: A sejtek osztódási rátája ErbB2 megvonásra már korai passzázsszámnál is csökkent, összhangban az ErbB2 biztosította proliferációs előnnyel. Ezekben a sejtekben a trastuzumab nem csökkentette tovább a proliferációt, és nem változtatott a sejtcikluson. Ugyanakkor a natív, tetraciklinnel nem kezelt SADR sejtekben a passzázsszám függvényében G1 blokkot okozott, rövidtávon fokozta az ErbB2 foszforilációt, hosszútávon pedig csökkentette az ErbB2-expressziót. Míg a passzálás elején alig volt észlelhető a trastuzumab hatása, a 20. passzázsnál minden, a trastuzumabra jellemző ErbB2-függő hatás megmutatkozott. Az apoptózis ráta igen alacsony volt (1% alatti), és a kezeléseink nem befolyásolták. A trastuzumab az SADR sejteken hosszú távon csökkentette a fókuszok számát és növelte a sejtek szétterülését.

Következtetés: A vizsgált rendszer érdekes modellnek tűnik az ErbB2 onkogénhez történő sejtszintű addikció tekintetében. A kísérletek egyszersmind felhívják a figyelmet a transzfektált sejtes rendszerek stabilitási problémáira.

Témavezető: Dr. Vereb György